Morfološka i biokemijska svojstva plodova pasje ruže (Rosa canina L.) iz različitih regija Republike Hrvatske

Bosilj, Patricija

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:217496

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

MORFOLOŠKA I BIOKEMIJSKA SVOJSTVA PLODOVA PASJE RUŽE (*Rosa canina* L.) IZ RAZLIČITIH REGIJA REPUBLIKE HRVATSKE

DIPLOMSKI RAD

Patricija Bosilj

Zagreb, rujan, 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:

Ekološka poljoprivreda i agroturizam

MORFOLOŠKA I BIOKEMIJSKA SVOJSTVA PLODOVA PASJE RUŽE (*Rosa canina* L.) IZ RAZLIČITIH REGIJA REPUBLIKE HRVATSKE

DIPLOMSKI RAD

Patricija Bosilj

Mentor:

Izv. prof. dr. sc. Martina Grdiša

Zagreb, rujan, 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Patricija Bosilj**, JMBAG 0178106649, rođena 22.11.1994. u Varaždinu, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

Morfološka i biokemijska svojstva plodova pasje ruže (*Rosa canina* L.) iz različitih regija Republike Hrvatske

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____ _____

Potpis studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Patricija Bosilj**, JMBAG 0178106649, naslova

Morfološka i biokemijska svojstva plodova pasje ruže (*Rosa canina* L.) iz različitih regija Republike Hrvatske

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo: potpisi:

1. izv. prof. dr. sc. Martina Grdiša, mentor _____
2. izv. prof. dr. sc. Jana Šic Žlabur, član _____
3. prof. dr. sc. Martina Skendrović Babojelić, član _____

Zahvala

Zahvaljujem se mentorici izv. prof. dr. sc. Martini Grdiša na trudu, vremenu i savjetima tijekom izrade ovog diplomskog rada.
Zahvaljujem se svojim roditeljima na podršci tijekom mojeg školovanja.
Zahvaljujem se suprugu Nikoli i svojoj djeci, Kaji i Juraju, na razumijevanju tijekom izrade ovog diplomskog rada.

SADRŽAJ

1. Uvod 1
1.1. Cilj istraživanja 2
2. Pregled literature 3
2.1. Sistematska klasifikacija i rasprostranjenost pasje ruže 3
2.2. Morfološka svojstva pasje ruže 5
2.3. Kemijska svojstva pasje ruže 7
2.4. Upotreba i ljekovita svojstva 9
2.5. Tehnologija uzgoja 10
2.5.1. Generativno i vegetativno razmnožavanje 10
2.5.2. Postupci u uzgoju i preradi pasje ruže 11
2.6. Uzgoj pasje ruže u Hrvatskoj i svijetu 14
3. Materijali i metode 16
3.1. Biljni materijal 16
3.2. Analiza morfoloških i fizikalnih svojstava plodova 20
3.3. Analiza kemijskog sastava ploda pasje ruže 22
3.3.1. Određivanje ukupne suhe tvari sušenjem na 105 °C 22
3.3.2. Određivanje topljive suhe tvari 23
3.3.3. Određivanje ukupne kiselosti 23
3.3.4. Određivanje pH vrijednosti 24
3.3.5. Određivanje L-askorbinske kiseline 25
3.3.6. Određivanje ukupnih fenola 26
3.3.7. Određivanje flavonoida i neflavonoida 28
3.3.8. Određivanje β-karotena 29
3.3.9. Određivanje sadržaja likopena 30
3.3.10. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom 31
3.4. Statistička obrada podataka 32
4. Rezultati i rasprava 33
4.1. Rezultati morfoloških i fizikalnih analiza 33
4.1.1. Masa ploda 33
4.1.2. Visina ploda 34
4.1.3. Širina ploda 35
4.1.4. Indeks oblika ploda 35
4.1.5. Boja ploda 36
4.2. Rezultati kemijskih analiza 40
4.2.1. Osnovni fizikalno-kemijski sastav plodova pasje ruže 40
4.2.2. Sadržaj vitamina C 41
4.2.3. Sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i neflavonoida 42
4.2.4. Sadržaj β-karotena 44

4.2.5. Sadržaj likopena 45
4.2.6. Antioksidacijski kapacitet 46
5. Zaključak 48
6. Popis literature 49
Životopis 55

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Patricija Bosilj**, naslova

Morfološka i biokemijska svojstva plodova pasje ruže (*Rosa canina* L.) iz različitih regija Republike Hrvatske

Pasja ruža (*Rosa canina* L.) je biljna vrsta koja samoniklo raste na području cijele Europe, pa tako i Republike Hrvatske. Plodovi pasje ruže posjeduju iznimnu ljekovitu i prehrambenu vrijednost, ponajviše zbog sadržaja vitamina C.

Cilj ovog diplomskog rada bio je utvrditi morfološka i fizikalno-kemijska svojstva plodova samoniklih genotipova pasje ruže uzorkovanih na području Republike Hrvatske. U tu svrhu uzorkovano je 12 populacija na području središnje Hrvatske, istočne Hrvatske, Istre i južne Dalmacije na kojima je utvrđena masa, visina, širina, indeks ploda te boja ploda. Kemijske analize plodova uključivale su utvrđivanje sadržaja suhe tvari (%), topljive suhe tvari (%), ukupnih kiselina (%), pH-vrijednosti, vitamina C (mg/100 g svježe tvari), ukupnih fenola (mg GAE/100 g svježe tvari), ukupnih flavonoida i neflavonoida (mg GAE/100 g svježe tvari), β-karotena (mg/100 g svježe tvari), likopena (mg/g) te antioksidacijskog kapaciteta (μmol TE/L).

Utvrđene su statistički značajne razlike između populacija u istraživanim svojstvima plodova. Analize su pokazale kako je najvarijabilnije svojstvo masa ploda, dok je za indeks ploda utvrđena najmanja varijabilnost. Najviše vrijednosti ovih svojstava, uključujući i visinu plodova utvrđene su kod populacije P07 Izimje (središnja Hrvatska). Najviši sadržaj vitamina C, β-karotena i antioksidacijski kapacitet utvrđeni su kod populacije P04 Strošinci (istočna Hrvatska). Izuzev antioksidacijskog kapaciteta, sadržaj vitamina C i β-karotena bio je visoko varijabilan kod analiziranih populacija. Najviši sadržaj ukupnih fenola utvrđen je kod populacije P05 Zagreb-Dubrava (središnja Hrvatska), dok je kod populacije P02 Varaždin (sjeverozapadna Hrvatska) utvrđen najviši sadržaj likopena.

Na temelju provedenog istraživanja može se zaključiti da je kod plodova samoniklih populacija pasje ruže utvrđena široka morfološka i kemijska varijabilnost, a dobiveni rezultati mogu predstavljati osnovu za daljnja istraživanja i otkrivanje korisnih genotipova pasje ruže.

Ključne riječi: fizikalna svojstva, antioksidacijski kapacitet, bioaktivni spojevi, samonikle populacije, vitamin C

Summary

Of the master's thesis – student **Patricija Bosilj,** entitled

Morphological and biochemical properties of the fruits of dog rose (*Rosa canina* L.) from different regions of the Republic of Croatia

The dog rose (*Rosa canina* L.) is a plant species that grows wild throughout Europe, including the Republic of Croatia. The fruits of the dog rose have exceptional medicinal and nutritional value, mainly due to their vitamin C content.

The aim of this thesis was to determine the morphological, physical, and chemical characteristics of the fruits of wild dog rose genotypes in the Republic of Croatia. For this purpose, 12 populations in central Croatia, Slavonia, Istria and southern Dalmatia were sampled and the mass, height, width, fruit index and fruit color were determined. The chemical analyses of the fruits included the determination of dry matter content (%), soluble dry matter (%), total acids (%), pH, vitamin C (mg/100 g fresh matter), total phenols (mg GAE /100 g fresh matter), total flavonoids and non-flavonoids (mg GAE /100 g fresh matter), β-carotene (mg /100 g fresh matter), lycopene (mg/g) and antioxidant capacity (μmol TE /L).

Statistically significant differences between the populations were found in the analysed properties of the fruits. Analyses showed that the most variable trait was fruit mass, while the lowest variability was found for fruit index. The highest values of these traits, including fruit height, were found in population P07 Izimje (central Croatia). The highest levels of vitamin C, β-carotene and antioxidant capacity were found in population P04 Strošinci (eastern Croatia). Except for antioxidant capacity, the content of vitamin C and β-carotene was highly variable in the studied populations. The highest content of total phenols was found in population P05 Zagreb-Dubrava (central Croatia), while population P02 Varaždin (northwestern Croatia) had the highest content of lycopene.

Based on the obtained results, it can be concluded that the fruits of wild populations of dog rose have a great morphological and chemical variability, and the obtained data can be the basis for further research and discovery of useful dog rose genotypes.

Keywords: physical properties, antioxidant capacity, bioactive compounds, wild populations, vitamin C

1. Uvod

Pasje ruže rasprostranjene su na području cijele Hrvatske, a kako nisu zahtjevne što se tiče agroekoloških uvjeta, može ih se naći u urbanim i ruralnim prostorima, ali i najzabačenijim dijelovima prirode. (Šindrak i sur. 2013). Plantažni uzgoj pasje ruže (*Rosa canina* L.) na području Hrvatske tek je u začecima (Tomljenović i sur. 2016), dok se u drugim zemljama Europe provode selekcijski postupci i oplemenjivanje (Uggla 2004, Günes 2010). Do sada u Hrvatskoj nisu provedena sustavna istraživanja botaničkih i agrobioloških svojstava pasje ruže pa stoga još uvijek nije korištena u selekcijske svrhe.

Kroz povijest su se svi biljni dijelovi pasje ruže koristili u ljekovite svrhe, a njezin značaj za ljude ogleda se i u tome što se slika pasje ruže u prošlom stoljeću nalazila i na poštanskim markama u čak 19 država, uglavnom s područja Europe, a sa svrhom informiranja ljudi i promoviranja ljekovitih i aromatičnih svojstava ove vrste (Erkin 2017). U posljednje vrijeme sve se veća pozornost pridaje plodu pasje ruže zbog njegovog nutritivnog značaja i ljekovitih svojstava (Nađpal 2017). Plod je posebno bogat vitaminom C, fenolima, karotenoidima, masnim kiselinama i ostalim bioaktivnim spojevima koji imaju povoljan utjecaj na održavanje zdravlja i liječenje različitih bolesti kao što su artritis, reuma i prehlada (Selahvarzian i sur. 2018), a neka istraživanja pokazuju da ima i antitumorska svojstva (Cagle i sur. 2012).

Na hrvatskom tržištu je velika potražnja za plodovima pasje ruže, prvenstveno od prehrambeno prerađivačke industrije, a te potrebe zadovoljavaju se uglavnom uvoznom sirovinom, zbog čega je i viša cijena prerađevina za krajnje potrošače. Dio potreba mogao bi se zadovoljiti na domaćem tržištu kada bi postojale veće površine u uzgoju. Hrvatska ima povoljne uvjete za plantažni uzgoj pasje ruže, ali je potrebno provesti istraživanja na domaćim populacijama i selekcijskim postupcima stvoriti autohtone ekotipove koji imaju zadovoljavajuću gospodarsku vrijednost (Šindrak i sur. 2013). Kako se u oplemenjivanju najveća pozornost posvećuje prirodu i kvaliteti tj. kemijskom sastavu ploda potrebno je analizirati što više prirodnih populacija zbog velike varijabilnosti morfoloških i kemijskih svojstava plodova između i unutar populacija (Tomljenović 2019), a koje su posljedica obitavanja biljaka u različitim agroekološkim uvjetima (Bozhuyuk i sur. 2021).

1.1. **Cilj istraživanja**

Cilj diplomskog rada je utvrditi morfološka i fizikalno-kemijska svojstva plodova samoniklih genotipova pasje ruže na području Republike Hrvatske.

2. Pregled literature

2.1. Sistematska klasifikacija i rasprostranjenost pasje ruže

Sistematika roda *Rosa,* kojem pripada pasja ruža (*Rosa canina* L.), intenzivno se proučava posljednjih 200 godina, a njegova složenost poznata je još od prvih znanstvenih klasifikacija. Morfološka svojstva nisu pouzdana kao temelj za određivanje sistematske pripadnosti zbog prisutnosti polimorfizma i međuvrsne hibridizacije unutar roda *Rosa,* pa samim time ni analiza morfoloških svojstava nije rezultirala široko prihvaćenom sistematikom. Štoviše, korištenje morfoloških svojstava kao temelj za klasifikaciju ruža najčešći je uzrok zabune u taksonomiji zbog velikog utjecaja okolišnih čimbenika i selekcijskog pritiska. Kako tradicionalna istraživanja nisu dovoljna za determinaciju, uz njih se rade i anatomske, mikromorfološke i peludne analize, a u posljednje vrijeme dolazi i do korištenja molekularnih biljega. Korištenjem morfologije i molekularnih alata za istraživanje filogenetike tj. povijesti evolucije roda *Rosa* dobiven je bolji uvid u odnose između sekcija i vrsta (Tomljenović i Pejić 2018).

Taksonomski sustav za determinaciju vrsta i hibrida iz roda *Rosa* još uvijek nije međunarodno usuglašen zbog različitih načina klasifikacije u različitim regijama. Kontinentalna Europa koristi uži sustav razdvajanja vrsta, dok se na području Velike Britanije vrste iz roda *Rosa* klasificiraju prepoznavanjem temeljnih vrsta pasje ruže i njihovih brojnih međuvrsnih hibrida kao nototaksona, a ne kao vrsta (Bakker i sur. 2019). Raznolikost roda *Rosa* do sada nije istraživana u velikom broju na području Hrvatske (Tomljenović i Pejić 2018).

Rod *Rosa* dijeli se na 4 podroda: *Hulthemia* (1 vrsta), *Hesperhodos* (2 vrste), *Plathyrhodon* (1 vrsta) i *Rosa* (oko 180 vrsta). Podrod *Rosa* podijeljen je na 10 sekcija (*Pimpinellifoliae, Rosa, Caninae, Carolinae, Gallicanae, Synstylae, Indicae, Banksianae, Laevigatae, Bracteatae*) od kojih je prema broju vrsta najbrojnija sekcija *Caninae* (pasje ruže), a broji oko 50 vrsta (Werlemark i Nybom 2010). Taksonomija sekcije *Caninae* je složena zbog mogućnosti križanja vrsta unutar sekcije *Caninae*, kao i križanje vrsta unutar sekcije *Caninae* sa ostalim sekcijama podroda *Rosa* zbog čega je prema Bakker i sur. (2019.) na području zapadne i srednje Europe danas moguće prepoznati 17 vrsta iz sekcije *Caninae,* kao i 73 međuvrsna hibrida (uglavnom na području Britanskih otoka). Sekcija *Caninae* je relativno mlada te je još uvijek u procesu diferencijacije na području taksonomije podsekcija zbog čega dolazi do poteškoća u detaljnom taksonomskom razvrstavanju (De Cock i sur. 2008). Ta sekcija sastoji se od podsekcija *Trachyphyllae, Rubifoliae, Vestitae, Rubigineae, Tomentellae* i *Caninae* (Werlemark i Nybom 2010). Podsekciju *Caninae* čine vrste *R. canina, R. corymbifera, R. dumalis* subsp. *dumalis, R. dumalis* subsp. *coriifolia, R. montana, R. stylosa, R. subcanina* i *R. subcollin* (Werlemark i Nybom 2010).

Tablica 2.1. Sistematska klasifikacija pasje ruže (*Rosa canin*a L.)

Klasifikacijska kategorija	Naziv
Carstvo (*Regnum*)	Planteae
Odjeljak (*Divisio*)	Magnoliophyta
Pododjeljak (*Subdivisio*)	Spermatophytina
Razred (*Classis*)	Magnoliopsida
Red (*Ordo*)	Rosales
Porodica (*Familia*)	Rosaceae
Rod (*Genus*)	*Rosa*
Podrod (*Subgenus*)	*Rosa*
Sekcija (Sectio)	*Caninae*
Vrsta (*Species*)	*Rosa canina* L.

Izvor: Euro+Med PlantBase, 2021

Dakle, pasja ruža (*Rosa canina* L.) vrsta je iz roda *Rosa*, podroda *Rosa* unutar sekcije *Caninae* i podsekcije *Caninae* (Tablica 2.1.). Kako je teško razlikovati vrste unutar podsekcije *Caninae* naziv "pasja ruža" često u istraživanjima može predstavljati bilo koju vrstu iz podsekcije *Caninae*, a ponekad čak i bilo koju vrstu iz cijele sekcije *Canina*e (Werlemark i Nybom 2010).

Rod *Rosa*, rasprostranjen je u umjerenoj zoni sjeverne hemisfere i širi se južno regijama s mediteranskom klimom te prema gorskim dijelovima tropske geografske širine. Divlje ruže su ruderalne vrste koje rastu uz rubove šuma, u šikarama, uz živice, željezničke pruge, putove, nasipe, a često se nalaze uz otvorene pašnjake i uz rubove prometnica. Vrste iz sekcije *Caninae* imaju veliki potencijal za širenjem pa u nekim regijama imaju status korovske i invanzivne vrste zbog opasnosti od ugrožavanja poželjne vegetacije (Tomljenović 2019).

R. canina autohtona je vrsta sjeverne Afrike, Makaronezije, umjerenih područja zapadne i srednje Azije, Kavkaza, Pakistana i Europe na kojima je stabilna i široko rasprostranjena do 2,400 metara nadmorske visine. Aktivnošću čovjeka, divlja ruža i srodne vrste prenesene su i naturalizirane na području SAD-a, Australije, Novog Zelanda i Južne Amerike (Fougère-Danezan i sur. 2015).

R. canina zajedno sa svojim mnogobrojnim hibridima čini najrasprostranjeniju vrstu u Europi (Tomljenović i sur. 2016). Na području Hrvatske je velika rasprostranjenost prirodnih samoniklih populacija divljih ruža (Nikolić 2022) koje rastu u sve tri geografske regije, a naseljavaju raznolika staništa u pogledu klimatskih prilika i tla. Slika 2.1. prikazuje rasprostranjenost vrste *R. canina* u Hrvatskoj.



Slika 2.1. Rasprostranjenost vrste *Rosa canina* L.
Izvor: Nikolić, 2022.

2.2. **Morfološka svojstva pasje ruže**

U prirodnim uvjetima pasja ruža ima oblik razgranatog grma koji doseže visinu od 1 do 3 m (Šindrak i sur. 2013). Grmovi su uglavnom bujni, više ili manje trnoviti (Tomljenović 2019).

Grmovi pasje ruže sastavljeni su od tankih izbojaka koji na sebi nose listove, pupove i trnove (Slika 2.2.). Izbojci su goli i svijeni u lukove, a imaju slabo izražene nodije. Izbojci na starijim granama su kratki, ali brojniji (Domac 2002). Srčika je na presjeku okrugla i prljavo bijele boje. Trnovi su do 10 mm duljine, a na dnu su prošireni zbog čega podsjećaju na pseće zube (Scheerer 1971). Boja trnova varira od žućkasto zelene boje na mladim trnovima, do crvenkaste boje na strani okrenutoj suncu, a kasnije tamnosmeđe boje. Na mjestima listova nakon opadanja nastaje ožiljak koji je uzak i koritast, ima tri traga provodnih snopića, a obuhvaća gotovo cijeli izbojak. Na izbojima se nalaze sitni spiralno raspoređeni pupovi koji su rijetki, a smješteni su malo otklonjeno iznad ožiljaka otpalih listova. Pupovi imaju zatupljene tamnozelene ili smeđe ljuske. Korijenov sustav prodire duboko u tlo (Šindrak i sur. 2013).



Slika 2.2. Izbojci vrste *Rosa canina* L.
(Autorica: Bosilj P., 2022)

Listovi su smješteni naizmjenično na izbojcima. Neparno perasti listovi dužine su oko 7 do 9 cm, a uglavnom su sastavljeni od sedam, a rjeđe od pet ili devet jajolikih do eliptičnih liski. Liske su pilasto nazubljene, gornja strana im je gola i sjajna, a s donje strane su obrasle rijetkim dlačicama (Forenbacher 1990). Lisna peteljka je bodljikava, ima zalistak, a pri dnu se nalaze dva uska palistića (Grlić 2005). Slika 2.3. prikazuje list i cvijet pasje ruže.

Pasja ruža ima velike cvjetove, promjera od 2 do 8 cm. Cvjetovi su bijele ili ružičaste boje i nježnog i ugodnog mirisa. Sastoje se od pet latica, a lapovi su duži od latica i ostaju dugo uspravljeni nakon cvatnje. Cvjetovi mogu biti raspoređeni pojedinačno ili po nekoliko cvjetova zajedno u gronji (Schubert 1979).U njima se nalazi jednoredna ružičasta krunica intenzivna mirisa koja sadrži puno nektara i peluda. Cvatnja pasje ruže traje od svibnja do srpnja. Plod je jajolik, a površina mu je glatka i sjajna. Sastoji se od mesnatog ovoja, koji dozrijevanjem poprima crvenu boju, čija unutrašnjost je ispunjena mnogobrojnim sjemenkama. Slika 2.4. prikazuje zrele plodove pasje ruže. Unutar mesnatog ovoja nalazi se puno sitnih blijedo žućkastih, tvrdih i uglatih sjemenki koje su pokrivene svilenkastim dlačicama (Forenbacher 1990).



Slika 2.3. List i cvijet vrste pasje ruže
(Autorica: Bosilj P., 2022)



Slika 2.4. Plodovi pasje ruže
(Autorica: Bosilj P., 2022)

2.3. **Kemijska svojstva pasje ruže**

Zreli plodovi pasje ruže sadrže mineralne tvari, sirova ulja, vlakna i aminokiseline, vitamine, flavonoide, fenole, karotenoide i eterična ulja (Fan i sur. 2014, Tomljenović i sur. 2016). Od karotenoida najzastupljeniji je likopen. Uz likopen, u plodu pasje ruže nalaze se i β-karoten, rubiksantin, lutein i zeaksantin. Plodovi sadrže i nezasićene (linolna i alfa linolenska kiselina) i zasićene masne kiseline (palmitinska, laurinska) te značajan udio tanina, šećera i pektina (Nybom i Werlemark 2015). Tablica 2.2. prikazuje sastav ploda i sjemenki pasje ruže.

Nutricionistički najvažniji spoj u plodovima pasje ruže je vitamin C čija ljekovitost se prepoznaje već u srednjem vijeku. Količina vitamina C u plodovima pasje ruže ovisi o vrsti, genotipu i okolišnim čimbenicima, a kreće se od 300 do 4000 mg/100 g. Velike razlike u utvrđenim količinama u različitim istraživanjima su posljedica nepostojanja međunarodno usklađenog postupka određivanja vitamina C, ali i toga što često nije definirano odnosi li se dobivena količina na svježu ili suhu tvar plodova pasje ruže. Vitamin C u tijelu je potreban za sintezu kolagena, tetiva i kosti, a veliki manjak uzrokuje skorbut, bolest koja može imati i smrtni ishod (Werlemark i Nybom 2010). Dio ploda koji sadrži najveći udio vitamina C je kožica, dok je u sjemenkama koncentracija do 6 puta manja (Georgieva i sur. 2014).

Tablica 2.2. Sastav ploda i sjemenki pasje ruže

Sastojak	Plod	Sjemenke
Voda	22,8 – 38,0 %	
Pepeo	2,4 %	
Pektini	11 %	
Invertni šećer	10,0 – 13,7 %	
Saharoza	0,6 – 2,4 %	
Tanini	2,0 – 2,7 %	
Eterična ulja	0,038 %	0,2 – 0,3 %
Masna ulja		≈ 8 %
Voćne kiseline	1 – 2 %	

Izvor: Arslan i sur. (1996)

Utvrđen je povećani sadržaj vitamina C u plodovima pasje ruže koji rastu na relativno kiselim tlima u odnosu na plodove ubrane sa biljaka koje rastu na blago alkalnim tlima. Na očuvanje vitamina C nakon berbe utječe zrelost ploda, način prerade i konzerviranja (Šindrak i sur. 2013). Uz vitamin C, plodovi pasje ruže sadrže i brojne druge vitamine (Tablica 2.3.).

Tablica 2.3. Sadržaj vitamina u plodovima pasje ruže

Vitamini	na 100 g svježeg ploda
Vitamin C (askorbinska kiselina)	426 mg- 850mg
Vitamin B1 (tiamin)	0,016 mg
Vitamin B2 (riboflavin)	0,166 mg
Vitamin B3 (niacin)	1,3 mg
Vitamin B5 (pantotenska kiselina)	0,8 mg
Vitamin B6	0,076 mg
Vitamin A (ekvivalent aktivnosti retinola)	217Âµg
Vitamin A (međunarodna jedinica)	4345 (IU)
Vitamin E	5,84 mg
Vitamin K	25,9 Âµg

Izvor: Fan i sur. (2014).

U plodovima pasje ruže nalaze se minerali navedeni u Tablici 2.4.

Tablica 2.4. Mineralni sastav plodova pasje ruže

Minerali	Na 100 g svježeg ploda
Kalij (K)	429 mg
Kalcij (Ca)	169 mg
Magnezij (Mg)	69 mg
Fosfor (P)	61 mg
Željezo (Fe)	1,06 mg
Bakar (Cu)	0,113 mg
Cink (Zn)	0,25 mg
Mangan (Mn)	1,02 mg
Natrij (Na)	4 mg

Izvor: Fan i sur. (2014).

2.4. **Upotreba i ljekovita svojstva**

Plodovi pasje ruže tradicionalno se koriste u mnogim europskim zemljama. Koriste se najčešće kao osušeni u liječenju prehlada, povišene temperature, kašlja i gripe te kod probavnih poremećaja kao što su proljev i gastritis (Sen i sur. 1996) i to najčešće u obliku čaja.

Ljekovita svojstva pasje ruže pripisuju se njezinom sastavu koji uključuje već spomenute flavonoide, karotenoide, masne kiseline, antioksidante i protuupalne spojeve (Winther i sur. 2016) te visoki udio vitamina, posebice vitamina C.

Znanstveno je dokazano da pripravci pasje ruže posjeduju protuupalni učinak (Cohen 2012), analgetski i antidijabetički učinak (Deliorman Orhan i sur. 2007) te antioksidacijsko (Gao i sur. 2000) i antiproliferativno djelovanje (Jiménez i sur. 2016). Nagatomo i sur. (2014) dokazali su snažan učinak ekstrakta pasje ruže u borbi protiv pretilosti. Učinkovitost pasje ruže dokazana je i u liječenju brojnih drugih zdravstvenih stanja kao što su osteoartritis (Gruenwald i sur. 2019) te poremećaji mokraćnog sustava (Seifi 2018).

Galaktolipid GOPO, važan je sastojak ploda pasje ruže s antioksidativnim učinkom. Taj bioaktivni sastojak ima dokazanu antitumorsku i protuupalnu aktivnost (Fan i sur. 2014). Ekstrakti karotenoida pokazali su antibakterijsko djelovanje na bakteriju *Helicobacter pylori* te

antitumorska svojstva, dok sam likopen ima preventivno djelovanje na bolesti srca, pluća te više vrsta tumora.

Kao što je već i navedeno, u sastavu ploda pasje ruže utvrđene su i esencijalne masne kiseline, kao što su linolna i alfa-linolenska kiselina, koje ljudi moraju unositi u tijelo jer ih sami ne mogu sintetizirati, a potrebne su za regulaciju krvnog tlaka, viskoznost krvi, normalno funkcioniranje neuroloških funkcija, itd.

Ulje ploda pasje ruže ima značajnu vrijednost i u kozmetičkoj industriji zbog sadržaja već spomenutih masnih kiselina (Öszan 2002). Prah sjemenki pasje ruže ima pozitivan utjecaj na dugovječnost kože i usporavanje procesa starenja (Phetcharat i sur. 2015). Ulje sjemenki koristi se i za liječenje kožnih bolesti kao što su ožiljci, opekline, psorijaza i razni oblici dermatitisa (Winther i sur. 2016).

Zbog okusa i nutritivnih svojstava, upotreba ploda pasje ruže raširena je u prehrambenoj industriji gdje se koristi kao sirovina za izradu džemova, marmelada, sokova i sl. (Tomljenović i sur. 2016). Od ploda pasje ruže mogu se raditi i slatkiši, sladoledi, jogurti, vina i osvježavajuća pića. U Švedskoj se od plodova radi tradicionalna juha, u Njemačkoj se koristi u izradi kolača, dok se na Kavkazu smrvljene sjemenke koriste kao začin. Latice su također jestive i koriste se u salatama i desertima. Ne preporuča se konzumiranje svježih sirovih plodova jer sadrže dlačice koje djeluju iritirajuće na probavni sustav (Grlić 2005).

Pasja ruža koristi se kao ukrasna biljka u hortikulturi, kao bioindikator zagađenja tla te za sprječavanje erozije tla. Drvo ruža koristi se kao sirovina u drvnoj industriji za proizvodnju lula, ukrasnih kutija i parketa zbog lijepih šara (Lodeta 2006). Koristi se i kao važna podloga za cijepljenje u komercijalnoj proizvodnji hibridnih vrsta ruža (Beales i Austin 2005).

2.5. **Tehnologija uzgoja**

Pasja ruža najbolje uspijeva u područjima umjerene klime s godišnjom količinom oborina od 400 do 900 mm. U pogledu tla pasjoj ruži odgovaraju smeđa i crvenkasto smeđa tla koja se nalaze na podnožju planina na visinama od 1100-1140 m (Šindrak i sur. 2013).

2.5.1. Generativno i vegetativno razmnožavanje

U prirodi pasje ruže se razmnožavaju uglavnom generativno sjemenom, koje ptice raznose na velike udaljenosti pa tako brzo naseljavaju nova staništa. Zrelost plodova utječe na koncentraciju dormena u sjemenkama, odnosno njihova koncentracija se povećava s dozrijevanjem. Dormantnost se može prekinuti predtretmanima sjemena (npr. stratifikacija i kemijski tretmani kiselinama, biljnim regulatorima rasta, tioureom i vitaminima), bez kojih do klijanja sjemena dolazi tek u drugoj godini nakon sjetve. Optimalna klijavost postiže se pravovremenim branjem plodova u fazi prijelaza boje iz zelene u crvenkastu ili ranije ako su sjemenke otvrdnule (Werlemark i Nybom 2010, Šindrak i sur. 2013).

Vegetativno razmnožavanje pasje ruže uglavnom se provodi pomoću reznica, bilo zelenim, zrelim ili korijenovim. Pasje ruže razmnožavaju se i izdancima ili cijepljenjem na podlogu. Uspješnost ukorjenjivanja reznica pasje ruže ovisi o nekoliko čimbenika, kao što su: vrijeme uzimanja reznice, vrsta reznice, promjer i dužina reznice te fiziološko stanje matične biljke. Na uspješnost ukorjenjivanja također veliki utjecaj imaju i supstrat za ukorjenjivanje, okolišni čimbenici te primjena biljnih hormona u različitim koncentracijama (Werlemark i Nybom 2010).

Zbog problema lošeg ukorjenjivanja reznica te slabe klijavosti sjemena, u novije vrijeme, u suvremenoj hortikulturi primjenjuje se razmnožavanje metodom *in vitro* kulture stanica, tkiva i organa (Mažur 2015).

Pasje ruže imaju specifičan način prijenosa gena zbog "canina mejoze" koja se javlja kod biljaka iz sekcije *Caninae*, a karakterizira ju heterogamni razvoj tetraploidnog jajašca i haploidnog polena zbog čega su biljke uzgojene iz sjemena skoro pa identične majčinskoj biljci (Ritz i sur. 2005).

2.5.2. Postupci u uzgoju i preradi pasje ruže

Sadnja biljaka obično se provodi u jesen, a biljke se sade na razmak između redova od 3,5 do 4 m, dok razmak u redu može biti od 1 do 2 m, ovisno o bujnosti korištenih sadnica. Razmak od 0,7 m koristi se u nasadima koji su namijenjeni za mehaniziranu berbu kako bi biljke međusobno jedna drugoj predstavljale oslonac (Uggla i Martinsson 2005). Preporuča se sadnju obaviti na dobro dreniranim i lakšim tlima. Tijekom sadnje svaku biljku je potrebno opskrbiti s 50 g NPK u obliku organskog gnojiva što je ekvivalent 3- 4 kg zrelog stajskog gnoja (Werlemark i Nybom 2010). Nakon sadnje potrebno je ograditi nasad kako bi se spriječile štete od životinja u prve tri godine dok sadnice ne ojačaju (Uggla i Martinsson 2005). U prvoj godini se tlo kultivira traktorskim kultivatorom i provodi se zaštita ukoliko je to potrebno. U drugoj godini sije se trava između redova, a pojas od 40 cm oko biljke se okopava. U narednim godinama se kosi trava u redovima (Šindrak i sur. 2013). U trećoj ili četvrtoj godini ograda više nije potrebna, jer su biljke jače i trnovitije te im životinje više ne mogu naškoditi, neke su čak i poželjne jer pasu travu između redova (Matleković 2016). U nasadu je potrebno održavati tlo (Slika 2.5.) kako bi se spriječio rast korova, a za tu namjenu se mogu koristiti i crne plastične folija za malčiranje kako bi se izbjeglo korištenje herbicida (Werlemark i Nybom 2010). Na slici 2.6. prikazan je nasad pasje ruže.



Slika 2.5. Održavanje nasada između redova



Slika 2.6. Nasad pasje ruže

U godinama nakon sadnje potrebno je unositi oko 300 kg/ha NPK što se može postići gnojidbom s 20 do 25 tona zrelog stajskog gnoja po hektaru.

Pravilnom rezidbom i uzgojnim oblikom utječe se na količinu i kakvoću plodova. Nakon sadnje se na mladim biljkama ostavljaju 2 do 5 pupa na svakom glavnom izbojku, s gornjim pupovima okrenutima prema van. Svake godine u proljeće potrebno je obaviti rezidbu kojom oblikujemo grm u skladu s odabranim uzgojnim oblikom i načinom berbe. Za ručnu berbu preporučuje se zimski rez kojim se ostavlja 10 do15 rodnih izboja s ciljem prozračivanja i osiguravanja više svjetla za proljetno pupanje. Tijekom rezidbe uklanjaju se svi slabi izbojci i oni koji su stariji od dvije godine (Werlemark i Nybom 2010). Kod nasada u kojima se obavlja mehanizirana berba, rezidba se provodi svake druge godine u rano proljeće pri čemu se koristi kosilica za živice montirana na traktor (Uggla i Martinsson 2005). Kod biljaka koje su prevelike ili prestare pa ne rađaju redovito i obilno, potrebno je provesti jaki rez koji se radi na 5-10 cm iznad tla. Takav rez potrebno je provoditi svakih 8 do10 godina kako bi produžili vijek iskorištenja nasada (Bartels i sur. 1998).

Na pasjoj ruži javljaju se biljne bolesti koje ovisno o uzročniku dijelimo na bakterioze, mikoze i viroze. Zaštita od bakterioza je preventivna, a ako dođe do zaraze potrebno je odstraniti i uništiti bolesnu biljku. Bakterioze koje se pojavljuju na pasjoj ruži su posljedica djelovanja bakterija *Agrobacterium tumefaciens*, zbog koje dolazi do tumora korijenova vrata i korijena, i *Agrobacterium rhizogenes*, koja uzrokuje dlakavost korijena. Preventivne mjere za tumor korijenovog vrata i korijena uključuju močenje korijena sadnice u otopinu ilovače i svježe kravlje balege, izbjegavanje ozljeđivanje korijena i korijenovog vrata tijekom sadnje i uzgoja, kontroliranje higijene supstrata te pranje i sterilizacija alata za rezidbu. Preventivna mjera za dlakavost korijena je umakanje reznica u 0,5 postotnu otopinu natrijeva hipoklorita (Šindrak i sur. 2013). Mikoze su gljivične bolesti, a uglavnom napadaju nadzemne dijelove biljaka pa postoje preparati kojima je moguće uspješno suzbiti bolest. Najvažnija je prevencija koja se provodi uravnoteženom gnojidbom i izborom lokacije koja je dovoljno osunčana i ima dovoljno svjetlosti i strujanja zraka. Rezidbom se također preventivno djeluje na smanjenje mogućnosti

pojave gljivičnih oboljenja ostavljanjem dovoljno prostora između izbojaka kako bi u središtu grma bilo dovoljno svjetlosti i prozračnosti (Vermeulen 2003). Mikoza koja je najopasnija za vrste iz sekcije *Caninae* je antraknoza (*Sphaceloma rosarum*) u spolnom stadiju. Ostali uzročnici gljivičnih bolesti koji se pojavljuju na pasjoj ruži su *Septoria rosae*, koja uzrokuje pjegavost lista, *Podosphaera pannosa*, uzročnik pepelnice koja je opasna u ranijim stadijima razvitka biljke, te četiri uzročnika hrđe iz roda *Phragmidium* (Šindrak i sur. 2013).

Viroze su bolesti čiji uzročnici su virusi, a zaštita u borbi protiv virusa je prevencija jer kada se pojavi viroza potrebno je odstraniti i uništiti zaraženu biljku. Mozaik ruže može imati više uzročnika, a oni mogu biti virus nekrotične prstenaste pjegavosti trešnje (PNRSV), virus mozaika jabuke (ApMV), virus mozaika gušarke (ArMV) i virus latentne prstenaste pjegavosti jagode (SLRV). Crtičavost ruže (RSV) je virus koji uzrokuje prijevremeno padanje listova (Cvjetković i sur. 2006).

Većina štetnika ne stvara velike štete na ružama. Preporuča se povećati bioraznolikost i broj korisnih kukaca u nasadu kako bi se mogućnost najezde nekog štetnika smanjila na najmanju moguću vjerojatnost. U smanjenju njihove brojnosti pomažu i ptice koje se njima hrane pa se preporuča osigurati drvene kućice za sjenice, zviždacima nisko grmlje, a za palčiće živicu (Vermeulen 2003). Štetnici u nasadima pasje ruže su lisne uši iz porodice *Aphididae*, potporodice *Aphidinae*, pravokrilci iz porodice *Acrididae*, grinje iz porodice *Tetranychidae* i opnokrilci iz podreda *Symphyta*, porodice *Tenthredinidae*. Znatne štete u nasadima čini ličinka voćne muhe *Rhagoletis alternata* iz porodice Tephritidae (Werlemark i Nybom 2010). Ose šiškarice iz porodice Cynipidae mogu također uzrokovati štete na plodovima u nekim godinama (Grlić 2005).

Berba plodova počinje kada postignu svijetlo crvenu boju te su još uvijek tvrdi na dodir. Pravovremena berba sprječava gubitke izazvane bolestima te smanjenje kakvoće ubranih plodova (Werlemark i Nybom 2010). Optimalno vrijeme berbe moguće je odrediti korištenjem kolorimetra pri čemu se prati dinamika promjene boje. Vrijeme za berbu na temelju vrijednosti mjerenih kolorimetrom je kada se očitana vrijednost boje stabilizira u crvenoj i žutoj komponenti (Šindrak i sur. 2013). Berba plodova provodi se ručno ili korištenjem strojeva. Ručna berba (Slika 2.7.) provodi se korištenjem ljudske snage pri čemu jedan berač ubere 4-6 kg plodova u jednom satu. Nakon ručne berbe nema zaostalih plodova i biljke se ne oštećuju (Werlemark i Nybom 2010). Mehanizirana berba plodova pasje ruže obavlja se pomoću strojeva (Slika 2.8.), a oni se koriste za berbu na velikim površinama. Kod strojne berbe javlja se problem zbog velike sile potrebne kako bi se plod odvojio od rodnog izboja pa dio plodova ostaje na biljci. Plodovi koji ostaju na biljkama omogućuju bolestima i štetnicima da se na njima zadržavaju te se lakše šire na plodove u slijedećoj vegetacijskoj godini (Uggla i Martinsson 2005).



Slika 2.7. Ručno branje pasje ruže



Slika 2.8. Strojno branje pasje ruže

Nakon berbe potrebno je plodove podvrgnuti postupcima kojima će se očuvati njihovi korisni sastojci. Najčešće se provodi sušenje plodova prirodnim putem, a mogu se sušiti u komadu ili usitnjeni na manje dijelove. Sušenje je potrebno provesti što brže kako bi se smanjila degradacija hranjivih sastojaka, gubitak boje i vitamina (Karhan i sur. 2004). Sušenje cijelih plodova je dugotrajnije od sušenja usitnjenih plodova pa dolazi do većeg gubitka vitamina C. Preporuča se i sušenje plodova u umjetnim, kontroliranim uvjetima u specijaliziranim sušionicama kako bi se očuvala fizikalna i nutritivna svojstva ploda (Erentürk i sur. 2005).

2.6. **Uzgoj pasje ruže u Hrvatskoj i svijetu**

Premda se plodovi pasje ruže sakupljaju od davnina, njezin uzgoj u Hrvatskoj je neznatan. U Republici Hrvatskoj, u sustavu potpore 2016. godine bilo je 14 proizvođača pasje ruže na 16,46 ha od čega je u sustavu ekološke poljoprivrede bilo 13,41 ha. Ograničenja za veću plantažnu proizvodnju su nedostatak domaćeg sadnog materijala i matičnih nasada te nepostojanje organiziranog otkupa (Tomljenović i sur. 2016 prema Agenciji za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju - APPRRR). Prema podacima za 2017., površine u sustavu potpore za ekološki uzgoj pasje ruže značajno su se povećale i iznosile 72,64 ha. Glavni razlog povećanja površina bio je dobivanje državnog poticaja u iznosu od 853 eura/ha (Tomljenović 2019 prema APPRRR, Ševar, M. – usmeno priopćenje).

U svijetu se pasja ruža intenzivnije proučava, oplemenjuje i uzgaja (Šindrak i sur. 2012). Najveći svjetski proizvođači i izvoznici očišćenog ploda pasje ruže su Peru i Čile, gdje se plod bere ručno uglavnom iz prirodnih staništa (Tomljenović i sur. 2016). Najveći proizvođač plodova je Čile, gdje samoniklo rastu tri vrste: *R. rubiginosa, R. moschata* (koje se ručno beru u velikim količinama) i *R. canina*, a sve tri vrste se zajedno plasiraju na tržište pod nazivom *Rosa mosqueta* (Joublan i Rios 2005). Iz Čilea se najviše prerađenih plodova izvozi u Europsku uniju i SAD. Najveći uvoznici plodova su Njemačka, Švedska i SAD. Njemačka uvozi 73 % svih proizvoda pasje ruže, Švedska uvozi oko 9 %, dok SAD ima uvoz od oko 8 %. Proizvod koji se najviše izvozi je meso ploda pasje ruže, a ulje sjemenki ploda također ima veliki promet na svjetskom tržištu (Werlemark i Nybom 2010). Godišnja potrošnja plodova pasje ruže na

svjetskoj razini je oko 45.000 t (Tomljenović i sur. 2016). Najveći europski proizvođači su Turska, Mađarska i Njemačka s godišnjom proizvodnjom od 200 do 1,000 t ploda, dok je Bugarska najveći regionalni proizvođač s proizvodnim površinama od oko 300 ha na kojima se uzgajaju kultivirane divlje ruže (Tomljenović 2019).

3. Materijali i metode

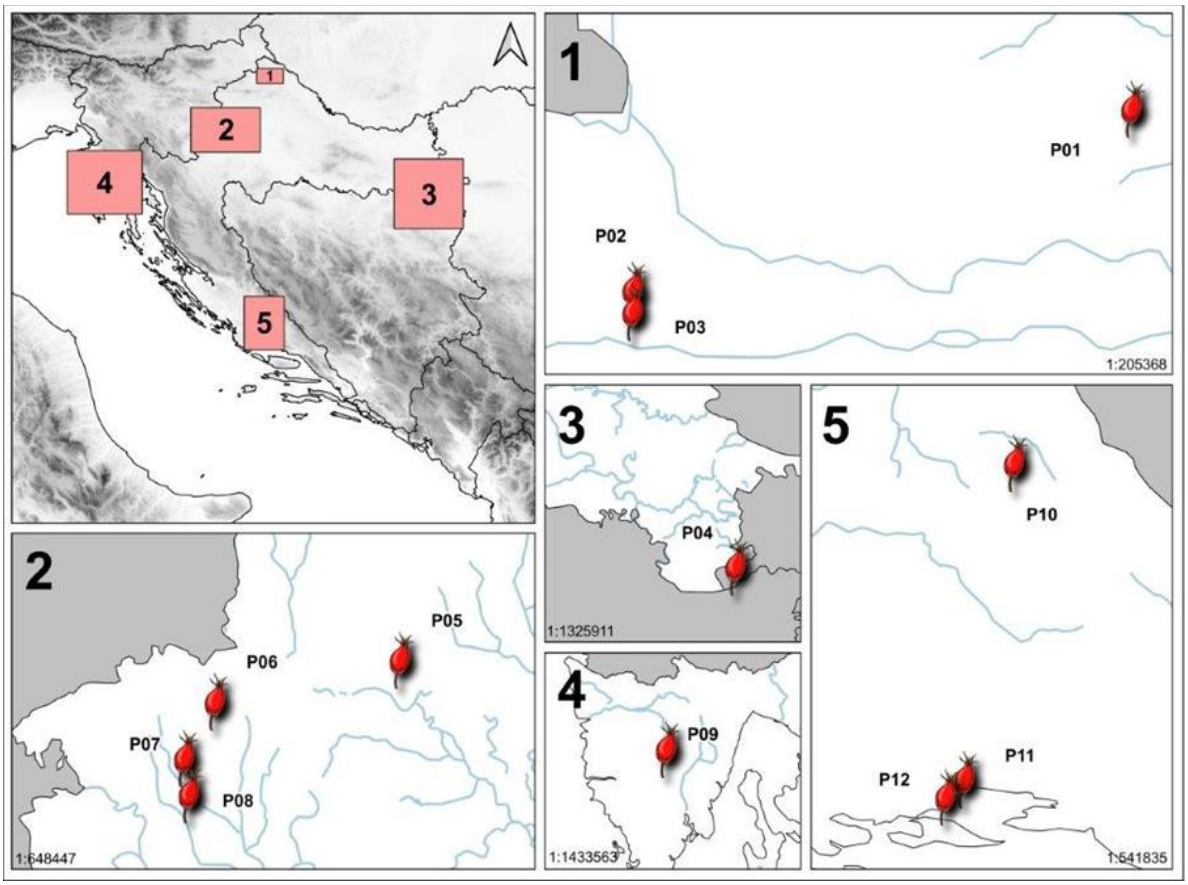
3.1. **Biljni materijal**

Biljni materijal prikupljen je na 12 lokacija na području Republike Hrvatske, a koje su prikazane u tablici 3.1. i na slici 3.1.

Tablica 3.1. Lokacije uzorkovanja populacija pasje ruže

Populacija	**Lokacija**	**Zemljopisna širina**	**Zemljopisna dužina**	**Nadmorska visina (m n. v.)**
P01	Hodošan	46°23'00.0"N	16°37'32.0"E	147
P02	Varaždin	46°17'53.0"N	16°18'40.0"E	171
P03	Varaždin 2	46°17'35.0"N	16°18'49.0"E	173
P04	Strošinci	44°54'57.0"N	19°04'31.0"E	79
P05	Zagreb - Dubrava	45°49'59.1"N	16°02'38.0"E	139
P06	Rude	45°45'56.0"N	15°40'00.0"E	373
P07	Izimje	45°41'30.9"N	15°36'22.0"E	159
P08	Novaki Petrovinski	45°38'41.6"N	15°37'13.3"E	126
P09	Lindar	45°13'42.3"N	13°57'33.1"E	435
P10	Vrlika	43°56'03.6"N	16°24'31.3"E	433
P11	Mir - Kaštel Novi	43°33'48.0"N	16°19'56.0"E	51
P12	Kaštel Štafilić	43°32'30.3"N	16°17'53.1"E	21

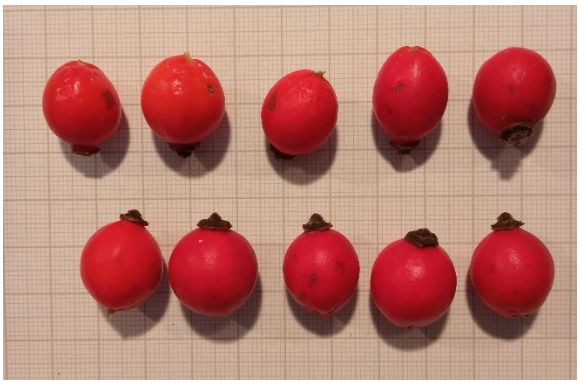
Uzorkovanje je provedeno u različitim geografskim regijama Hrvatske. Na području sjeverozapadne Hrvatske uzorkovane su tri populacije (P01 Hodošan, P02 Varaždin, P03 Varaždin 2), na području istočne Hrvatske uzorkovana je jedna populacija (P04 Strošinci), četiri populacije prikupljene su na području središnje Hrvatske (P05 Zagreb, P06 Rude, P07 Izimje, P08 Novaki Petrovinski), na Istarskom poluotoku prikupljeni su uzorci jedne populacije (P09 Lindar), dok su uzorci triju populacija prikupljeni u Dalmaciji (P10 Vrlika, P11 Kaštel Novi, P12 Kaštel Štafilić) (Slika 3.1.). Od svake populacije prikupljeno je oko 50 zdravih i neoštećenih plodova. Na slikama od 3.1. do 3.12. prikazani su nasumično odabrani plodovi prikupljenih populacija.



Slika 3.1. Lokacije uzorkovanja plodova pasje ruže
(Autor: Varga F., 2022)



Slika 3.2. P01 Hodošan



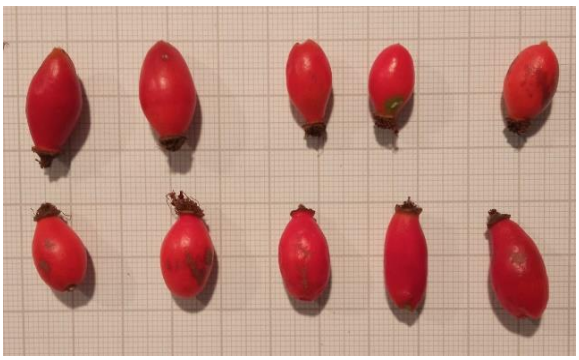
Slika 3.3. P02 Varaždin



Slika 3.4. P03 Varaždin 2



Slika 3.5. P04 Strošinci



Slika 3.6. P05 Zagreb, Dubrava



Slika 3.7. P06 Rude



Slika 3.8. P07 Izimje



Slika 3.9. P08 Novaki Petrovinski



Slika 3.10. P09 Lindar



Slika 3.11. P10 Vrlika



Slika 3.12. P11 Mir – Kaštel Novi



Slika 3.13. P12 Kaštel Štafilić

(Autorica: Bosilj P., 2022)

3.2. **Analiza morfoloških i fizikalnih svojstava plodova**

Analiza morfoloških i fizikalnih svojstava provedena je na 20 nasumično odabranih, zdravih i neoštećenih plodova iz svake populacije, u Laboratoriju za fizikalno-kemijske analize voća, Zavoda za Voćarstvo, Agronomskog fakulteta u Zagrebu. Mjerena je visina i širina ploda te masa i boja plodova. Visina i širina ploda mjereni su pomoću digitalnog pomičnog mjerila (Brüder Mannesmann AG. Remscheid, Njemačka; slika 3.14). Visina je mjerena od mjesta na kojem se plod spaja s peteljkom do vrha ploda, a širina na najširem dijelu ploda. Na temelju dobivenih vrijednosti visine i širine ploda izračunat je indeks oblika ploda, prema formuli:

$$IOP = L / W$$

*g*dje je:

IOP - indeks oblika ploda; *L* - visina ploda; *W* - širina ploda



Slika 3.14. Digitalno pomično mjerilo
(Autorica: Bosilj P., 2022.)



Slika 3.15. Analitička vaga
(Autorica: Bosilj P., 2022.)

Masa plodova (g) utvrđena je na analitičkoj vagi Radwag PS 1000.R2 (Slika 3.15.). Boja plodova određivana je korištenjem kolorimetra (PCE-CSM2, PCE Instruments UK Ltd.) po CIE Lab i LCH sustavu boja (Slika 3.16.). Prije mjerenja uređaj je kalibriran standardnim bijelim i crnim pločicama.

Kromatski parametri (L*, a* b*), odnosno parametri boje prema Hunterovoj skali označavaju sljedeće (Skendrović Babojelić i Fruk 2016):

(1) Vrijednost L (engl. *luminosity*) predstavlja doživljaj jasnoće boje u oku odnosno intenzitet svjetla ili tame. Ukoliko je vrijednost L* = 0 tada nema refleksije svjetlosti što upućuje na prisutnost crne boje, dok je kod L* = 100 odlična odnosno najveća refleksija koja sugerira na bijelu boju.



Slika 3.16. Kolorimetar
(Autorica: Bosilj P., 2022)

(2) Vrijednost a* označava intenzitet crvene ili zelene boje; negativne vrijednosti (-a*) ukazuju na prisutnost zelene (plavozelene) boje, dok pozitivne vrijednosti (+a*) ukazuju na prisutnost crvene (crveno purpurna) boje.
(3) Vrijednost b* označava intenzitet žute ili plave boje; negativne vrijednosti (-b*) ukazuju na prisutnost plave boje, a pozitivne vrijednosti (+b*) ukazuju na prisutnost žute boje.

3.3. **Analiza kemijskog sastava ploda pasje ruže**

Analize kemijskog sastava pasje ruže provedena je u Laboratoriju za analizu kvalitete poljoprivrednih proizvoda biljnog porijekla, Zavoda za poljoprivrednu tehnologiju, skladištenje i transport, Agronomskog fakulteta u Zagrebu.

3.3.1. Određivanje ukupne suhe tvari sušenjem na 105 °C

Ukupna suha tvar je količina tvari iz sastava proizvoda koja ne isparava pod definiranim uvjetima. Za određivanje ukupne suhe tvari razlikujemo tri postupka sušenja (sušenje na 105 ºC, sušenje u vakuumu i destilacija), a odabir metode ovisi o sastavu proizvoda. Za potrebe istraživanja u sklopu ovog diplomskog rada korištena je metoda sušenja na 105 ºC (AOAC, 1995).

Aparatura i pribor:

- laboratorijski sušionik (Heraeus, Typ R.B. 360 GmbH, Hanau)
- eksikator
- staklene posudice
- analitička vaga (Sartorius)
- stakleni štapić
- kvarcni pijesak

Postupak određivanja ukupne suhe tvari: U osušenu i izvaganu staklenu posudicu s poklopcem stavi se oko 5 g kvarcnog pijeska i stakleni štapić. Potom se osuši u laboratorijskom sušioniku pod određenim uvjetima sa skinutim poklopcem. Nakon sušenja poklopac se stavi na posudicu, posudica se izvadi iz sušionika i ohladi u eksikatoru, a zatim važe s točnošću 0,0002 g. U ohlađenu i izvaganu posudicu s pijeskom stavi se oko 3 do 5 g pripremljenog uzorka, koji se dobro izmiješa staklenim štapićem i sve zajedno izvaže s točnošću od 0,0002 g. Staklena posudica u kojoj se nalazi pijesak i ispitivana količina uzorka stavi se u laboratorijski sušionik zagrijan na 105 ºC ± 0,5 ºC u kojem se zagrijava jedan sat sa skinutim poklopcem. Nakon hlađenja i vaganja, sušenje se nastavlja sve dok razlika nakon dva uzastopna sušenja u razmaku od pola sata ne bude manja od 0,001 g. Iznova se važe s točnošću od ± 0,0002 g.

Ukupna suha tvar izračunata je prema formuli:

$$Suha\ tvar\ (\%) = (m2 - m0 / m1 - m0) \times 100$$

gdje je:

m0 (g) – masa posudice i pomoćnog materijala (pijesak, stakleni štapić, poklopac)

m1 (g) – masa posudice s ispitivanim uzorkom prije sušenja
m2 (g) – masa posudice s ostatkom nakon sušenja

3.3.2. Određivanje topljive suhe tvari

Topljiva suha tvar određuje se korištenjem refraktometra prema metodi AOAC (1995).

Aparatura i pribor:

- stakleni štapić
- refraktometar (Krüss, Optronic, Njemačka)

Postupak određivanja topljive suhe tvari: Pomoću staklenog štapića dio uzorka se stavi na donju učvršćenu prizmu refraktometra. Preko nje se odmah stavi gornja pokretna prizma. Izvor svjetlosti se postavi tako da dobro osvijetli vidno polje. Topljiva suha tvar izravno se očita na ljestvici refraktometra.

3.3.3. Određivanje ukupne kiselosti

Ova se metoda temelji na potenciometrijskoj titraciji otopinom natrijeva hidroksida (AOAC, 1995), a primjenjuje se na voću, povrću te proizvodima od voća i povrća.

Aparatura, pribor i reagensi:

- graduirana pipeta, obujma 25 i 100 ml
- odmjerna tikvica, obujma 250 ml
- analitička vaga (Sartorius)
- potenciometar sa staklenom elektrodom (Mettler Toledo, Sevenmulti)
- bireta obujma 100 ml
- filter papir
- natrijev hidroksid, otopina c (NaOH) = 0,1 mol/l
- puferna otopina poznatog pH

Priprema uzoraka za određivanje ukupne kiselosti: Uzorak se homogenizira te se odvagne 20 g koji se prenese u odmjernu tikvicu obujma 200 mL, nakon čega se tikvica dopuni do oznake destiliranom vodom, a njezin sadržaj dobro promućka i profiltrira. Potenciometar se baždari korištenjem puferne otopine. Ovisno o očekivanoj kiselosti otpipetira se 25 ml

pripremljenog uzorka i prenese u čašu s miješalicom. Miješalica se pusti u rad, a zatim se iz birete brzo dodaje otopina natrijeva hidroksida dok se ne postigne pH oko 7,90 – 8,01. Slika 3.17. prikazuje utrošeni volumen NaOH pri titraciji uzorka.

Ukupna kiselost se izračunava prema sljedećoj formuli:

$$Ukupna\ kiselost\ (\%) = ((V \times F \times G) / D) \times 100$$

gdje je,

V (mL) - volumen utrošene NaOH pri titraciji
F - faktor normaliteta NaOH
G (g/mL) - gramekvivalent najzastupljenije kiseline u uzorku
D (g) - masa uzorka u titriranoj tekućini



Slika 3.17. Utrošeni volumen (mL) NaOH tijekom titracije uzorka
(Autorica: Bosilj P., 2022)

3.3.4. Određivanje pH vrijednosti

Utvrđivanje pH vrijednosti provodi se korištenjem kombiniranih elektroda uronjenih u homogenizirani uzorak pri čemu dolazi do očitavanja vrijednosti na pH-metru (AOAC, 1995).

Aparatura i pribor:

- čaša volumena 25 mL

- magnet za miješanje
- magnetska miješalica (MM-510)
- pH-metar (Mettler Toledo, Sevenmulti)
- analitička vaga (Sartorius)

Postupak pripreme uzoraka i određivanje pH vrijednosti: Uzorci se najprije profiltriraju kako bi se uklonile balastne tvari, a zatim slijedi postupak određivanja pH vrijednosti. Prije mjerenja pH-metar se baždari pufer otopinom poznate pH vrijednosti kod sobne temperature. Vrijednost pH određuje se uranjanjem elektrode u ispitivani uzorak. Slike 3.18. i 3.19. prikazuju dijelove pH-metra.



Slika 3.18. pH-metar
(Autorica: Bosilj P., 2022)



Slika 3.19. Elektroda uronjena u ispitivani uzorak
(Autorica: Bosilj P., 2022)

3.3.5. Određivanje L-askorbinske kiseline

Za utvrđivanje sadržaja askorbinske kiseline korištena je metoda po AOAC (2002). 2,6-p-diklorindofenol oksidira L-askorbinsku kiselinu u dehidrosakorbinsku kiselinu, dok boja reagensa ne prijeđe u bezbojnu leukobazu, pa služi istovremeno i kao indikator ove redoks reakcije.

Aparatura, pribor i reagensi:

- homogenizator (Zepter international)
- analitička vaga (Sartorius)

- odmjerna tikvica volumena 100 mL
- čaše volumena 100 mL 29
- bireta 50 mL
- 2,6-p-diklorfenolindofenol
- 2 %-tna oksalna kiselina

Priprema uzoraka za određivanje sadržaja askorbinske kiseline: Uzorak se homogenizira uz dodatak 2 %-tne otopine oksalne kiseline i kvantitativno prenosi u odmjernu tikvicu od 100 mL. Uz povremeno miješanje, nakon jednog sata, odmjernu tikvicu se nadopuni otopinom oksalne kiseline do oznake. Filtrat se titrira otopinom 2,6-p-diklorindofenola. Iz utrošenog 2,6-p-diklorindofenola za titraciju filtrata do pojave ružičaste boje koja je bila postojana pet sekundi, izračuna se količina L-askorbinske kiseline u uzorcima te se izrazi u mg/100 g svježe tvari. Sadržaj askorbinske kiseline (vitamina C) izračunava se prema sljedećoj formuli:

$$Vitamin\ C\ (mg/100g) = (V \times F / D) \times 100$$

gdje je:

V (mL) - volumen utrošenog 2,6-p-diklorfenolindofenola pri titraciji
F - faktor normaliteta 2,6-p-diklorfenolindofenola
D (g) - masa uzorka u titriranoj tekućini

3.3.6. Određivanje ukupnih fenola

Ukupni fenoli određuju se spektrofotometrijski u etanolnom ekstraktu uzorka mjerenjem nastalog intenziteta obojenja pri valnoj duljini 750 nm. Metoda se temelji na kolornoj reakciji fenola s Folin-Ciocalteu reagensom. Folin-Ciocalteu reagens je smjesa fosfowolframove i fosfomolibden kiseline, a pri oksidaciji fenolnih spojeva ove kiseline se reduciraju u wolfram-oksid i molibden-oksid koji su plavo obojeni (Ough i Amerine 1988).

Aparatura, pribor i kemikalije:

- filter papir
- stakleni lijevci
- pipete, volumena 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL i 25 mL
- tikvica s okruglim dnom volumena 100 mL
- odmjerne tikvice volumena 50 mL i 100 mL
- kivete

- povratno hladilo
- spektrofotometar (Schimadzu UV 1650 PC)
- 96 %-tni etanol
- 80 %-tni etanol
- Folin-Ciocalteu reagens (F.C. reagens)
- zasićena otopina natrijeva karbonata

Priprema uzoraka za određivanje ukupnih fenola (Slika. 3.20.): 10 g uzorka se izvaže s točnošću ± 0,01 g i homogenizira se sa 40 mL 80 %-tnog etanola. Homogena smjesa kuha se 10 minuta uz povratno hladilo. Dobiveni ekstrakt se filtrira u odmjernu tivicu od 100 mL. Zaostali talog zajedno s filter papirom se prebaci s 50 mL 80 %-tnog etanola u tikvicu sa šlifom i dodatno kuha uz povratno hladilo još 10 min. Dobiveni ekstrakt se spoji s prethodno dobivenim ekstraktom i nadopuni do oznake s 80 %-tnim etanolom.

Postupak određivanja ukupnih fenola: U odmjernu tikvicu od 50 mL otpipetira se 0,5 mL ekstrakta, 30 mL destilirane vode i 2,5 mL F.C. reagensa. Sve skupa se promiješa. Pripremljenoj smjesi doda se 7,5 mL zasićene otopine natrijevog karbonata. Dobro se izmiješa, nadopuni destiliranom vodom do oznake te se ostavi dva sata na sobnoj temperaturi. Nakon toga mjeri se apsorbancija (optička gustoća otopine) pri valnoj duljini 750 nm uz destiliranu vodu kao slijepu probu.

Izrada baždarnog pravca: Za pripremu baždarnog pravca odvaže se 500 mg galne kiseline koja se otopi u 80 %-tnom etanolu i nadopuni u odmjernoj tikvici od 100 mL do oznake. Od pripremljene otopine galne kiseline prirede se razrjeđenja u odmjernim tikvicama od 100 mL, tako da se otpipetira redom 0, 1, 2, 3, 5 i 10 mL alikvota standarda u svaku tikvicu i potom se nadopunjavaju do oznake 80 % etanolom. Koncentracije galne kiseline u tikvicama iznose 0, 50, 100, 150, 250 i 500 mg/L. Iz svake tikvice otpipetira se 0,5 mL uzorka u odmjerne tikvice od 50 mL. Potom se dodaje redom 30 mL destilirane vode, 2,5 mL F.C. reagensa i 7,5 mL zasićene otopine natrijevog karbonata. Dobro se izmiješa i nadopunjava destiliranom vodom do oznake. Uzorci se ostave dva sata na sobnoj temperaturi. Nakon toga mjeri se apsorbancija pri valnoj duljini 750 nm uz destiliranu vodu kao slijepu probu. Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancija nacrta se baždarni pravac tako da se na apscisi nanese koncentracija galne kiseline (mg/L), a na ordinati izmjerene vrijednosti apsorbancije. Baždarni pravac nacrta se pomoću računala u programu Microsoft Excel, te se izračuna jednadžba pravca prema kojoj se izračuna koncentracija ukupnih fenola. Formula za izračun:

$$y = 0{,}001\,x + 0{,}0436$$

gdje je:

y – apsorbancija na 750 nm
x – koncentracija galne kiseline (mg/ L)



Slika 3.20. Priprema uzoraka za određivanje fenola
(Autorica: Bosilj P., 2022)

3.3.7. Određivanje flavonoida i neflavonoida

Za taloženje flavonoidnih fenolnih spojeva preporuča se upotreba formaldehida. Formaldehid reagira s C-6 ili C-8 pozicijom na 5,7-dihidroksi flavonoidu stvarajući metilol derivate koji dalje reagiraju s drugim flavonoidnim spojevima također na C-6 ili C-8 poziciji. Pri tome nastaju kondenzirane molekule koje se uklone filtriranjem. Ostatak neflavonoidnih fenola određuje se po metodi za ukupne fenole (Ough i Amerine, 1988). Razlika ukupnih fenola i neflavonoida daje količinu flavonoida.

Aparatura, pribor i kemikalije:

- filter papir
- stakleni lijevci
- Erlenmeyer-ova tikvica sa šlifom i čepom volumena 25 mL
- pipete volumena 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL i 25 mL
- analitička vaga
- staklene kivete

- spektrofotometar (Schimadzu UV 1650 PC)
- klorovodična kiselina, HCl 1: 4 (konc. HCl razrijedi se vodom u omjeru 1: 4)
- formaldehid (13 mL 37 %-tnog formaldehida u 100 mL vode)
- dušik za propuhivanje uzorka
- zasićena otopina natrijeva karbonata
- Folin-Ciocalteu reagens
- 80 %-tni etanol

Priprema uzoraka: Ekstrakt ukupnih fenola (opisan u poglavlju 3.3.7.) koristi se i za određivanje flavonoida i neflavonoida. Otpipetira se 10 mL ekstrakta u tikvicu od 25 mL i doda 5 mL otopine HCl (1:4) te 5 mL formaldehida. Smjesa se propuše dušikom, zatvori i ostavi stajati 24 sata na sobnoj temperaturi u mraku. Sljedeći dan se profiltrira preko filter papira i slijedi isti postupak kao za određivanje ukupnih fenola. Koncentracija neflavonoida izračunava se na isti način kao i koncentracija ukupnih fenola uzimajući u obzir i dodatna razrjeđenja. Iz razlike količine ukupnih fenola i neflavonoida odredi se količina ukupnih flavonoida.

3.3.8. Određivanje β-karotena

Metoda se temelji na odjeljivanju biološki aktivnih od ostalih karotenoidnih pigmenata u nekom ekstraktu, pomoću specifičnog adsorbensa s različitim afinitetom na različite pigmente. Pod određenim uvjetima različiti materijali mogu se razdijeliti na relativno oštre zone ili vrpce. Pojedini pigmenti pokazuju karakteristične apsorpcione maksimume, kod kojih se može njihova koncentracija odrediti fotometrijski.

Reagensi:

- adsorbens – smjesa jednakih dijelova Al_2O_3 i bezvodnog Na_2SO_4, a aktivira se zagrijavanjem na 150 °C za vrijeme 12-16 sati
- petroleter t.v. 40-70 °C
- aceton
- smjesa petroleter-aceton 1:1.Na litru smjese doda se 1 g hidrokinona
- 2%-tna otopina acetona u petroleteru
- kvarcni pijesak
- standard ß-karotena

Postupak određivanja:

(1) Ekstrakcija pigmenta:-u čašu od 50 mL se odvaže 1-2 g uzorka, doda se ista količina kvarcnog pijeska, 8-10 mL petroleter-acetona 1:1 i sve se dobro izmrvi. Ovako dobiveni ekstakt ostavi se stajati dok se čvrsti djelići ne slegnu. U lijevak za odvajanje od 250 mL, u koji je naliveno oko 50 mL vode, dekantira se otapalo, a vlažni talog se dalje mrvi dok se ne razore

obojeni djelići. Sitnjenje i dekantiranje ponavlja se tako dugo dok se još ekstrahira karoten. Za većinu materijala dovoljno je 5-8 ekstrakcija.
(2) Ispiranje acetonom: tragovi acetona se moraju potpuno odstraniti iz petroletera. To se postiže pomoću posebne aparature. Pipac gornjeg lijevka podesi se tako da pušta 100-200 kapi vode u minuti. Višak vode otječe noseći aceton i druge supstance otopljene u vodi ostavljajući karotene u petroleterskom sloju. Kada je ispiranje završeno vodeni sloj je bistar čak i dok padaju kapi vode.
(3) Pročišćavanje petroleterskog estrakta: eluat se prenese u odmjernu tikvicu od 25 mL i nadopuni petroleterom do oznake. Intenzitet boje ekstrakta mjeri se kod 450 nm, prema petroleteru kao slijepoj probi. Standardna krivulja izradi se pomoću standarda ß-karotena. Koncentracija karotena konačne otopine izražena je u µg/mL, a izračunava se prema formuli:

$$\mu g\ \% = (V/A) \times 100 \times c$$

gdje je:

V (ml) - konačni volumen elauata
A (g) - odvaga
c - koncentracija karotena u g/mL očitana iz dijagrama za izmjerenu vrijednost apsorbance

3.3.9. Određivanje sadržaja likopena

Za kvantitativno određivanje likopena korištena je metoda prilagođena za određivanje likopena iz plodova povrća i voća prema Fish i sur. (2002).

Postupak određivanja: odvaže se 0,3 g (±0,01) homogeniziranog uzorka i doda redom: 5 mL 0,05 % BHT-a otopljenog u acetonu (p.a.), 5 mL etanola (96 %) i 10 mL heksana (p.a.). Uzorci se inkubiraju u vodenoj kupelji pri 4 °C 15 min, nakon čega se doda 3 mL destilirane vode, a dobivena suspenzija ostavi se u vodenoj kupelji pri 4 °C 5 min. Uzorci se zatim inkubiraju 5 min pri sobnoj temperaturi. Nakon inkubacije na površini suspenzije odvoji se heksanski (obojeni, likopenski) sloj koji se pažljivo kapaljkom prenese u kivetu, te na spektrofotometru pri valnoj duljini od 503 nm izmjeri apsorbanca (A_{503}) uz heksan kao slijepu probu. Konačan sadržaj likopena izražava se u mg/g, a računa preko sljedeće formule:

$$Likopen\ (mg/g) = A_{503} \times 31{,}2 / m\ (g)$$

gdje je,

A 503 - apsorbanca pri λ=503 nm,
m - masa uzorka u gramima

3.3.10. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom

Metoda se temelji na gašenju stabilnog plavo-zelenog radikal-kationa 2,2′-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) (ABTS·+ radikal-kationa) koji se oblikuje bilo kemijskom ili enzimskom oksidacijom otopine ABTS-a čiji je karakterističan adsorpcijski maksimum pri valnoj duljini od 734 nm. U prisutnosti antioksidansa ABTS·+ kation se reducira u ABTS, a reakcija se očituje obezbojenjem plavo-zelene otopine. Udio uklonjenih ABTS radikala koje „gase" različiti antioksidansi mjeri se praćenjem smanjenja apsorbancije ABTS radikala te se uspoređuje sa smanjenjem apsorbancije koju uzrokuje dodatak određene količine Troloxa (6-hidroksi-2,5,6,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiseline) pri istim uvjetima (Miller i sur., 1993; Re i sur., 1999).

Priprema reagensa:

1. dan: 140 mM otopina kalijeva persulfata, K2S2O8 (0,1892 g K2S2O8 izvaže se i otopi u 5 mL destilirane vode u odmjernoj tikvici od 10 mL 7 mM ABTS otopina (0,0192 g ABTS reagensa otopi se u 5 mL destilirane vode u odmjernoj tikvici od 10 mL) stabilna ABTS·+ otopina (88 µL K2S2O8 otopine (140mM) prenese se u tikvicu u kojoj se nalazi 5 mL otopine ABTS-a; sadržaj tikvice se dobro promiješa, zatvori, obloži aluminijskom folijom i ostavi stajati 12-16 sati pri sobnoj temperaturi; stajanjem intenzitet plavo-zelene boje se pojačava)
2. dan: Na dan provođenja svih analiza priprema se 1%-na otopina ABTS·+ (1 mL ABTS·+ otopine otpipetira se u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopuni 96%-im etanolom do oznake. Nakon toga mjeri se apsorbanca 1%-ne otopine ABTS·+ pri 734 nm koja mora iznositi 0,70 ± 0,02. Ako apsorbanca otopine ne iznosi 0,734 onda ju je potrebno namjestiti, odnosno ako je apsorbanca premala u tikvicu od 100 mL pripremljene 1%-ne otopine ABTS·+ treba dodati još par kapi stabilne ABTS·+ otopine, a ako je apsorbanca prevelika onda treba razrijediti odnosno u tikvicu (100 mL) dodati još 96 %-og etanola. NAPOMENA: Isti dan kada se pripremi 1%-na otopina ABTS·+ s podešenom apsorbancom na 0,70 ± 0,02 treba napraviti i sve analize uzoraka (i baždarni pravac ako je to potrebno) jer je ABTS·+ otopina nestabilna i nepostojana već unutar 24 sata.

Procedura ekstrakcije iz uzoraka ista je kao i u protokolu određivanja fenola Folin-Ciocalteu metodom. ABTS metodu najbolje je provesti kada se rade i fenoli te iz pripremljenih fenolnih ekstrakata napraviti analizu i za fenole i za ABTS tako da se poslije rezultati sadržaja fenola i ABTS-a mogu korelirati. 10 g uzorka izvaže se izravno u Erlenmeyerovu tikvicu sa šlifom (300 mL) i doda se 40 mL 80 %-og etanola te se kuha uz povratno hladilo 10 minuta. Nakon kuhanja sadržaj se profiltrira u odmjernu tikvicu od 100 mL. Ostatak taloga zajedno s filtar papirom prebaci se u Erlenmeyerovu tikvicu (istu, 300 mL), doda se 50 mL etanola i ponovno kuha 10 min uz hladilo. Nakon toga sadržaj se profitrira u istu tikvicu od 100 mL odnosno ekstrakti se spoje, ohlade, nakon čega se odmjerna 35 tikvica od 100 mL nadopuni 80 %-im etanolom do oznake. Ako je potrebno ekstrakte treba razrijediti 80 %-im etanolom (u slučaju prevelike apsorbance).

Postupak određivanja antioksidacijskog kapaciteta (spektrofotometrijski): 160 µL uzorka (ekstrakta) pomiješa se s 2 mL 1%-ne otopine ABTS·+ te se nakon 1 min mjeri apsorbanca na 734 nm. Za slijepu probu koristi se 96 % etanol.
Izrada baždarnog pravca: Za izradu baždarnog pravca u ABTS metodi koristi se Trolox koji uzrokuje smanjenje boje ABTS·+ otopine. Točke određene za izradu baždarnog pravca su sljedeće: 0, 100, 200, 400, 1000, 2000 i 2500 µmol/dm3. Najprije se pripremi stock otopina i to tako da se u odmjernu tikvicu od 25 mL izvaže 0,0156 Trolox-a, a tikvica se 80 %-im etanolom nadopuni do oznake. Iz stock otopine uzimaju se sljedeći volumeni Trolox-a za pripremu daljnjih razrjeđenja koja se pripremaju u odmjernim tikvicama od 25 mL:

- 0 mL Trolox (samo EtOH)
- 100 ⟶ 0,4 mL
- 200 ⟶ 0,8 mL
- 400 ⟶ 1,6 mL
- 1000 ⟶ 4 mL
- 2000 ⟶ 8 mL
- 2500 ⟶ 10 mL

Nakon pripreme navedenih koncentracija Trolox-a iz svake tikvice u kojoj je navedena koncentracija Trolox-a uzima se 160 µL otopine Trolox-a i dodaje 2 mL 1%-ne ABTS·+ otopine podešene apsorbance (0,70 ± 0,02). Nakon što pomiješamo dodanu koncentraciju Trolox-a i 1 %-ne ABTS·+ otopine izmjeri se apsorbanca pri 734 nm. I tako za svaku točku koncentracije Troloxa. Temeljem izmjerenih vrijednosti apsorbanca za svaku točku napravi se baždarni pravac.

3.4. **Statistička obrada podataka**

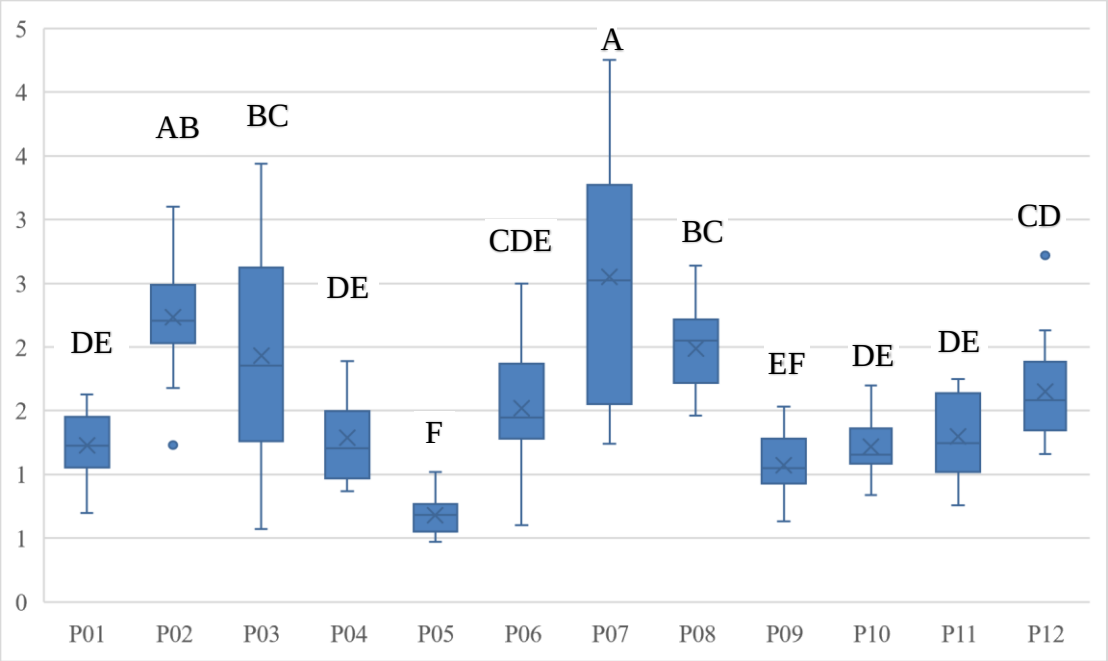
Za utvrđivanje razlike između populacija, podaci morfoloških i fizikalno-kemijskih analiza obrađeni su jednosmjernom analizom varijance (ANOVA). Analiza je provedena pomoću programa SAS softvera (SAS Institute, 2004), korištenjem naredbe PROC GLM. Prosječne vrijednosti analiziranih parametara uspoređene su pomoću Tukeyjevog *post hoc* testa.

4. Rezultati i rasprava

4.1. **Rezultati morfoloških i fizikalnih analiza**

4.1.1. Masa ploda

Masa plodova na razini pojedinačnih uzoraka kretala se od 0,47 g do 4,25 g, dok je srednja vrijednost na razini svih populacija iznosila 1,55 g. Za masu ploda utvrđen je visoki koeficijent varijabilnost (*CV* = 44,73 %). Najviša prosječna masa plodova utvrđena je kod populacije P07 Izimje, a iznosila je 2,55 g. Kod iste populacije utvrđeni je i najveći raspon između najveće (4,25 g) i najmanje (1,24 g) vrijednosti mase ploda. Masa plodova se statistički značajno razlikovala između svih populacija, izuzev populacije P02 Varaždin. Populacija P05 Zagreb, Dubrava imala je najniže vrijednosti najvećeg (1,02 g) i najmanjeg ploda (0,47 g), najmanji raspon između tih vrijednosti, a također i najnižu srednju vrijednost (0,68 g). Na grafu 4.1.1. prikazane su vrijednosti mase plodova analiziranih populacija.



*Populacije P01-P12 navedene su u tablici 3.1.

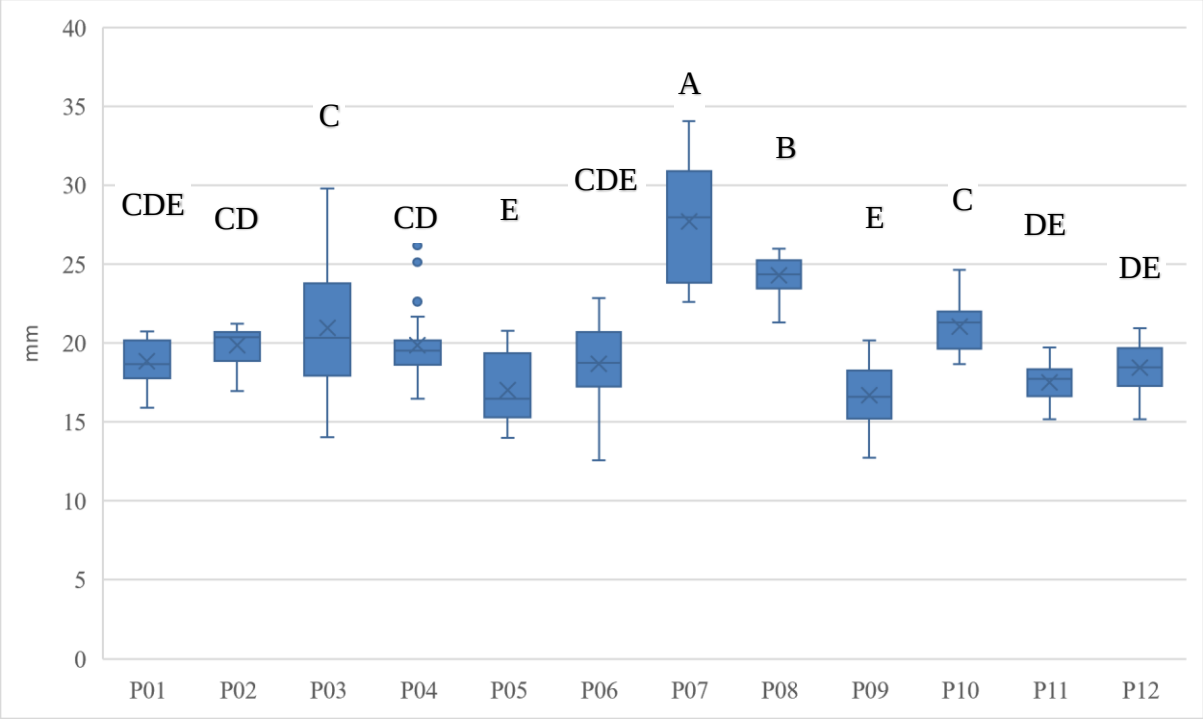
**Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P<0.05$

Graf 4.1.1. Masa ploda istraživanih populacija pasje ruže

Utvrđene vrijednosti za masu ploda su manje ili u skladu sa prosječnom masom plodova sjemenjaka (1,97-2,46 g) istraživanih na pokušalištu Jazbina (Šindrak i sur. 2012) te prosječnom masom plodova utvrđenom u istraživanju Ghiorghiţă i sur. (2012) i Ropciuc i sur. (2013).

4.1.2. Visina ploda

Visina plodova pasje ruže kod uzoraka istraživanih populacija varirala je od 12,58 do 34,06 mm, a srednja vrijednost visine ploda na razini svih populacija iznosila je 20,08 mm, dok je koeficijent varijabilnosti(*CV)* za ovo svojstvo iznosio 18,98 %. Plod najviše visine utvrđen je u populaciji P07 Izimje, koja je također populacija s značajno najvišom srednjom vrijednosti visine ploda (27,72 mm), slijedi populacija P08 Novaki Petrovinski, kod koje je utvrđena srednja vrijednost visine ploda od 24,31 mm. Između P08 Novaki Petrovinski i svih ostalih populacija utvrđena je značajna razlika. Populacija sa najnižom srednjom vrijednosti visine ploda bila je populacija P09 Lindar (16,69 mm). Najveći raspon između najviše i najniže vrijednosti visine ploda imala je populacija P03 Varaždin 2, dok je najmanji raspon imala populacija P02 Varaždin (Graf 4.1.2.).



*Populacije P01-P12 navedene su u tablici 3.1.

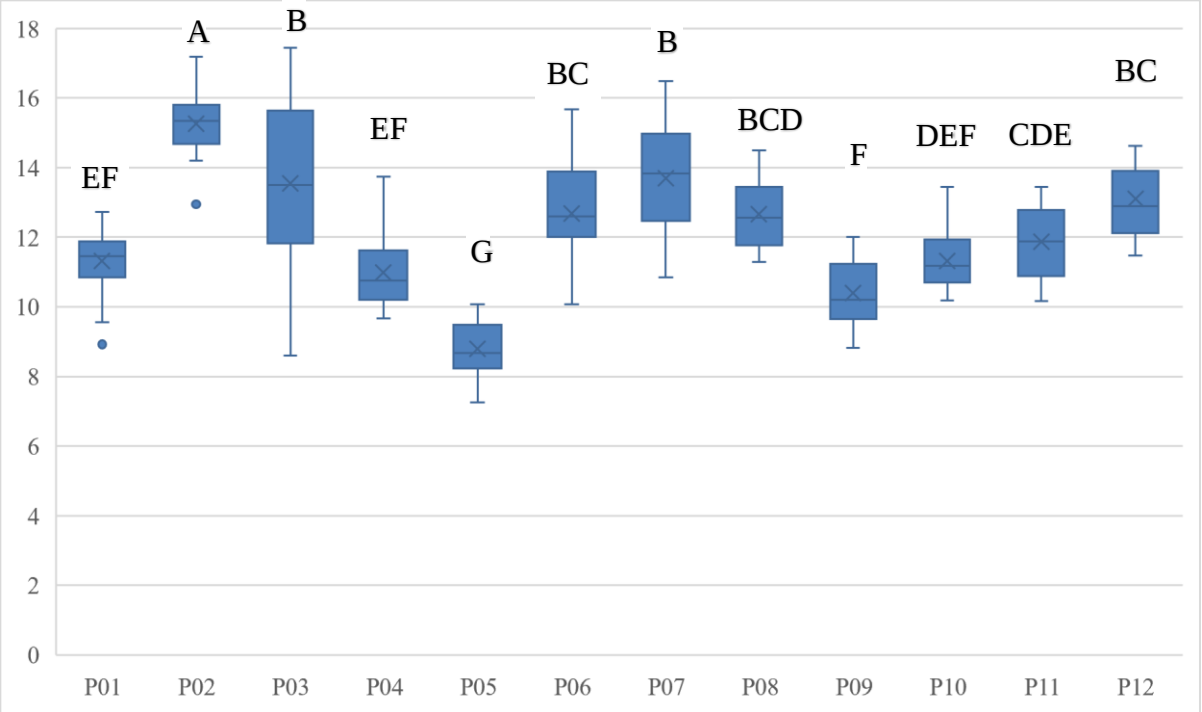
** Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P<0.05$

Graf 4.1.2. Visina ploda istraživanih populacija pasje ruže

Navedene vrijednosti visine više su ili u skladu s rezultatima istraživanja Tomljenović i sur. (2019) kod kojih su se vrijednosti kretale od 13,30 od 21,31 mm. Podudaraju se i s rezultatima analize sjemenjaka na pokušalištu Jazbina (Šindrak i sur. 2012) te rezultatima populacija iz Bijelog Polja (15,6-24,5 mm) prema navodu autora Šebek i Pavlova (2019).

4.1.3. Širina ploda

Utvrđene su statistički značajne razlike u širini plodova kod istraživanih populacija pasje ruže. Širina plodova na razini svih uzoraka varirala je od 7,26 do 17,44 mm, dok je srednja vrijednost širine plodova na razini populacija iznosila 12,44 mm. Koeficijent varijabilnosti bio je umjeren i iznosio je 17,10 %. Plod najveće širine nalazio se u populaciji P03 Varaždin 2. Kod populacije P05 Zagreb, Dubrava izmjeren je plod najmanje širine, a kod iste je utvrđen najmanji raspon između najviše i najniže vrijednosti, te značajno najniža srednja vrijednost širine ploda (8,79 mm). Populacija sa značajno najvišom srednjom vrijednosti širine ploda (15,26 mm) bila je populacija P02 Varaždin (Graf 4.1.3.).



*Populacije P01-P12 navedene su u tablici 3.1.
** Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P<0.05$

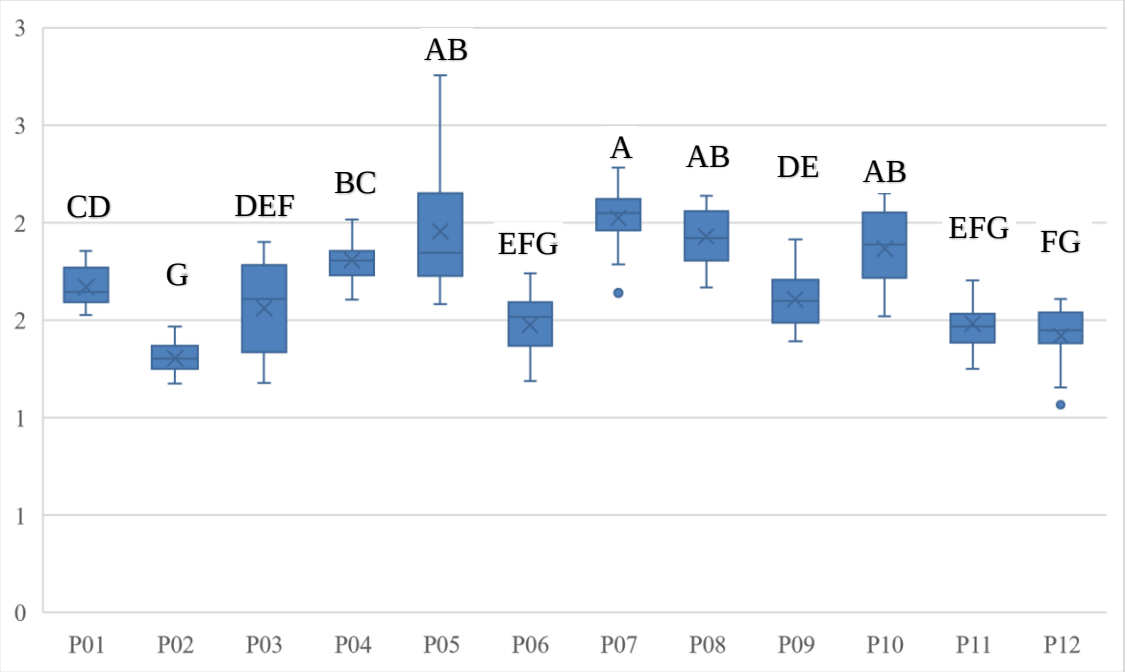
Graf 4.1.3. Širina ploda istraživanih populacija pasje ruže

Vrijednosti širine plodova populacija pasje ruže s područja Rumunjske kretale su se od 11,86 do 16, 80 mm (Ghiorghiță i sur. 2012), dok su se kod populacija iz Bijelog Polja kretale u rasponu od 9,2 do 14,4 mm (Šebek i Pavlova 2019).

4.1.4. Indeks oblika ploda

Koeficijent varijabilnosti za ovo svojstvo bio je 16,81 %. Vrijednosti prosjeka populacije za indeks oblika ploda kretale su se od 1,31 do 2,03. Najviše srednje vrijednosti, a

samim time najizduženiji oblik plodova, utvrđen je kod populacija P07 Izimje (2,03) i P05 Zagreb, Dubrava (1,95), dok su najniže srednje vrijednost utvrđene kod P02 Varaždin (1,31) i P12 Kaštel Štafilić (1,42) čiji su plodovi bili okruglastog do ovalnog oblika (Graf 4.1.4.). Vrijednosti indeksa oblika podudaraju se s vrijednostima plodova sjemenjaka na pokušalištu Jazbina (1,48-1,86; Šindrak i sur. 2012), a više su ili u skladu s vrijednostima plodova iz populacije divljih ruža u Rumunjskoj (1,16-1,72; Ghiorghiţă i sur. 2012).



*Populacije P01-P12 navedene su u tablici 3.1.

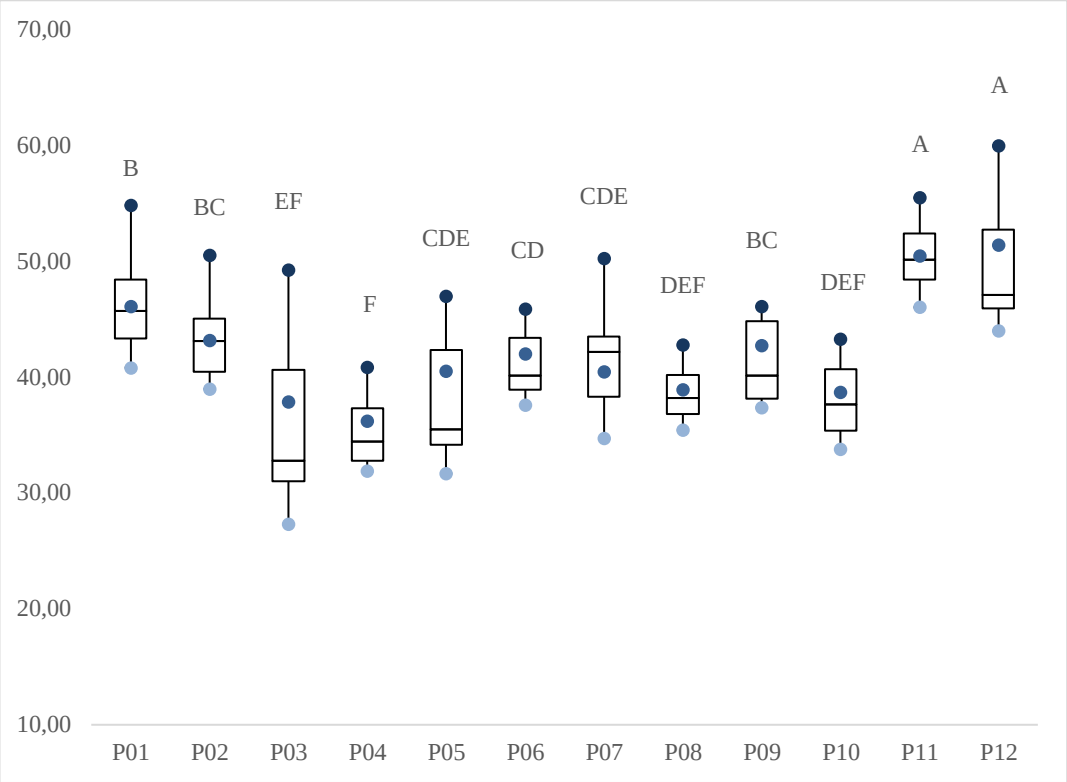
** Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P<0.05$

Graf 4.1.4. Indeks oblika ploda istraživanih populacija pasje ruže

4.1.5. Boja ploda

*Parametar boje L**

Na grafu 4.1.5.1. prikazane su vrijednosti parametra boje L*. Srednja vrijednost na razini svih populacija iznosila je 42,38. Najviša srednja vrijednost utvrđena je kod populacije P12 Kaštel Štafilić (51,40), dok je najniža srednja vrijednost utvrđena u populaciji P04 Strošinci (36,22). Statistički značajne razlike utvrđene su između populacija koje su analizirane, a prikazane su slovima na grafu 4.1.5.1. Između populacija P11 Kaštel Novi i P12 Kaštel Štafilić nisu utvrđene značajne razlike, dok se iste značajno razlikuju od ostalih populacija. Utvrđene vrijednosti su niže ili u skladu sa rezultatima istraživanja od Günes i sur. (2016), koji ne navode svoje rezultate, ali navode da su njihove vrijednosti parametra L* u skladu sa vrijednostima iz istraživanja Uggla (2004), kod kojih se vrijednost kretala od 39,03-50,07.



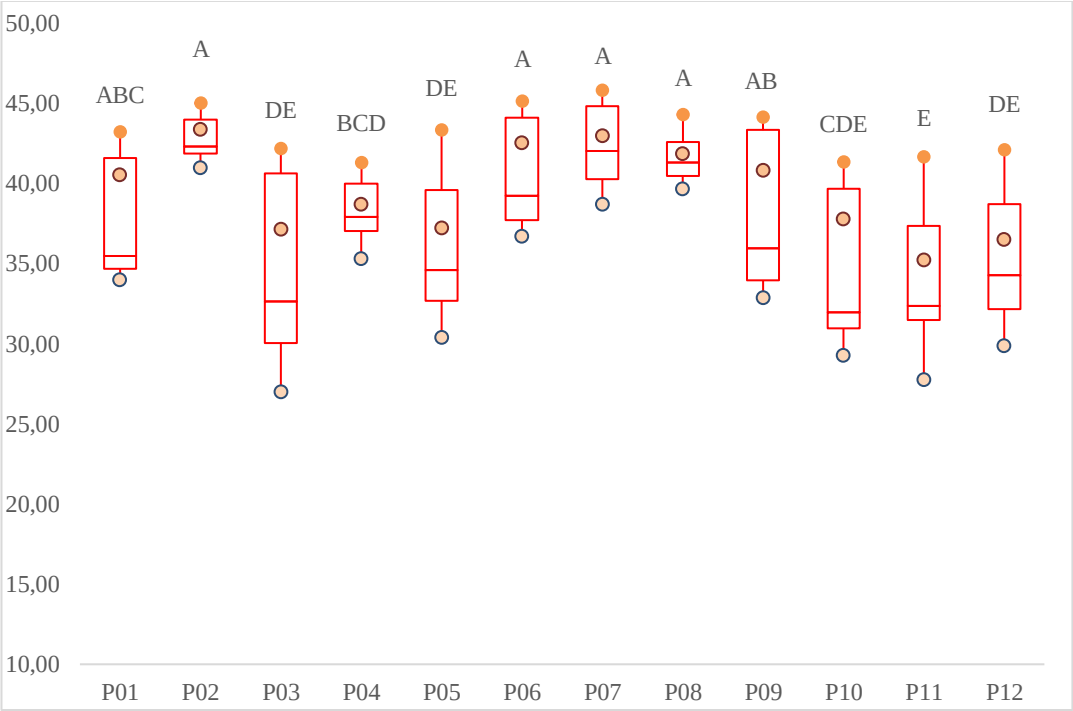
*Populacije P01-P12 navedene su u tablici 3.1.

** Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P<0.05$

Graf 4.1.5.1. Vrijednosti parametra boje L* kod ploda istraživanih populacija pasje ruže

*Parametar boje a**

Vrijednosti parametra a* izmjerene kod populacija pasjih ruža prikazane su na grafu 4.1.5.2. Uggla (2004) i Günes i sur. (2016) navode da se vrijednost parametara L* i b* dozrijevanjem smanjuju, dok se vrijednost parametra a* povećava. Srednja vrijednost parametra a* na razini svih populacija iznosila je 39,59. Najviše srednje vrijednosti, a samim time i najcrveniju boju imale su P02 Varaždin (43,41), P07 Izimje (43,00), P06 Rude (42,58) i P08 Novaki Petrovinski (41,91). Najniža srednja vrijednost utvrđena je kod populacije P11 Kaštel Novi (35,23). Populacija P02 Varaždin nije se statistički značajno razlikovala od P01 Hodošan, P06 Rude, P07 Izimje, P08 Novaki Petrovinski i P09. Utvrđenee vrijednosti veće su od vrijednosti dobivenih u istraživanju Egea i sur. (2010) te Šindrak i sur. (2012).



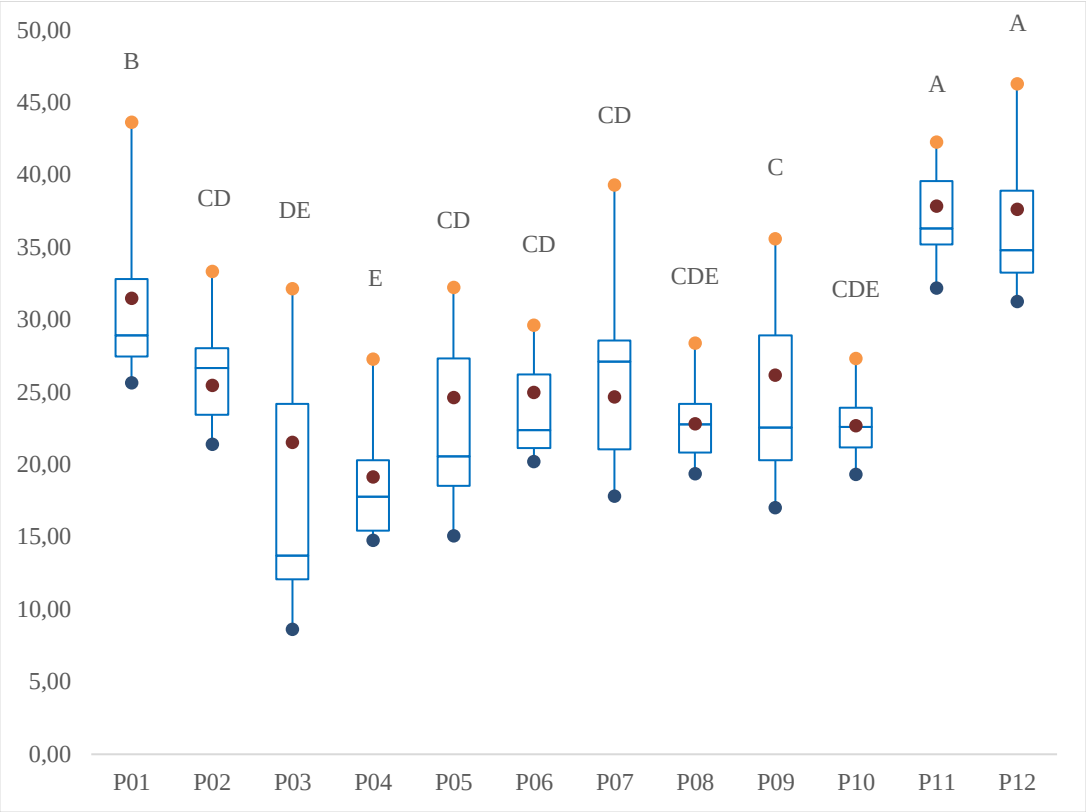
*Populacije P01-P12 navedene su u tablici 3.1.

**Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P<0.05$

Graf 4.1.5.2. Vrijednosti parametra boje a* kod ploda istraživanih populacija pasje ruže

*Parametar boje b**

Na populacijama pasje ruže utvrđene su vrijednosti parametra b*, a iste su prikazane na grafu 4.1.5.3. Srednja vrijednost svih populacija iznosila je 26,60. Najviša srednja vrijednost na razini populacije izmjerena je u populaciji P11 Kaštel Novi (37,87), na čijim su plodovima bili izraženi žuti tonovi, a najniža srednja vrijednost u populaciji P04 Strošinci (19,14). Populacije P11 Kaštel Novi i P12 Kaštel Štafilić se statistički značajno nisu razlikovale međusobno, ali su se signifikantno razlikovale od ostalih populacija u vrijednosti parametra b*. Veće vrijednosti parametra b* (39,39-47,73) utvrđene su kod Ercisli (2007).



*Populacije P01-P12 navedene su u tablici 3.1.

** Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P<0.05$

Graf 4.1.5.3. Vrijednosti parametra boje b* kod ploda istraživanih populacija pasje ruže

Na razlike u morfoloških i fizikalnim svojstvima plodova pasje ruže zasigurno je utjecalo više čimbenika. Najznačajniji utjecaj, uz nasljedna svojstva, vrlo vjerojatno su imale klimatske prilike (količina i raspored oborina, temperatura) tijekom razvoja ploda, plodnost tla te položaj lokacija prikupljanja (nadmorska visina, nagib i inklinacija, insolacija), kao i broj zametnutih plodova. Razlike u boji ploda također su posljedica dozrijevanja plodova u različitim klimatskim uvjetima, ali i osvijetljenosti grma te položaju plodova u grmu.

4.2. **Rezultati kemijskih analiza**

4.2.1. Osnovni fizikalno-kemijski sastav plodova pasje ruže

Tablica 4.2.1. Osnovna fizikalno-kemijska svojstva plodova pasje ruže

Populacija	S. T. (%)	Ukupne kiseline (%)	pH	TST ºBrix
P01	48,02 EFG	**0,41 F**	**4,33 A**	12,92 G
P02	60,06 A	1,03 C	4,21 B	16,22 DE
P03	47,41 FG	0,48 F	4,22 AB	**10,77 H**
P04	49,01 EF	0,90 D	4,24 AB	17,21 CD
P05	55,49 BC	1,46 B	4,02 C	20,34 B
P06	53,90 CD	0,83 D	3,90 D	17,95 C
P07	50,79 DE	1,50 B	**3,72 E**	21,71 B
P08	**44,86 G**	**2,56 A**	3,74 E	**28,67 A**
P09	**60,57 A**	0,61 E	4,17 B	14,09 G
P10	55,38 BC	0,66 E	4,02 C	14,30 FG
P11	57,66 AB	0,65 E	4,13 BC	12,91 G
P12	56,72 BC	0,80 D	4,14 B	15,59 EF

*Populacije P01-P12 navedene su u tablici 3.1.

** Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P<0.05$

U tablici 4.2.1. prikazane su srednje vrijednosti za sadržaj suhe tvari (%), ukupnih kiselina (%), pH- vrijednosti i sadržaja topljive suhe tvari (TST; %). Najviša srednja vrijednost sadržaja suhe tvari utvrđena je kod populacije P09 Lindar (60,57 %), dok su nešto niže vrijednosti utvrđene kod P02 Varaždin (60,06 %), a između ove dvije populacije nije utvrđena statistički značajna razlika. Statistički značajno najniža srednja vrijednost ukupne suhe tvari iznosila je 44,86 %, a utvrđena je u populaciji P08 Novaki Petrovinski. Dobivene vrijednosti za sadržaj suhe tvari u skladu su sa ili više od vrijednosti koje su dobivene u istraživanju autora Günes i sur. (2016), kod kojih je utvrđen raspon od 33,17 do 47,00 %, kao i rezultatima istraživanja autora Kazankaya i sur. (2005), kod kojih se sadržaj kretao od 39,8 do 55,4 %. Niže vrijednosti sadržaja suhe tvari utvrđene su kod nekih drugih autora; 23,24 do 36,83 % (Tomljenović i sur., 2021), 24,84 do 29,46 % (Tomljenović i sur., 2019), 23,0 do 28,7 % (Uggla i sur., 2003).

U dostupnim istraživanjima sadržaj ukupnih kiselina u plodovima pasje ruže kretao se od 1,8 do 3,6 % (Šebek i Pavlova, 2019), 1,4 do 3,2 % (Günes i sur. 2010) te 1,11 do 3,67 % u istraživanju Günes i sur. (2016), što se u određenoj mjeri i poklapa s rezultatima ovog

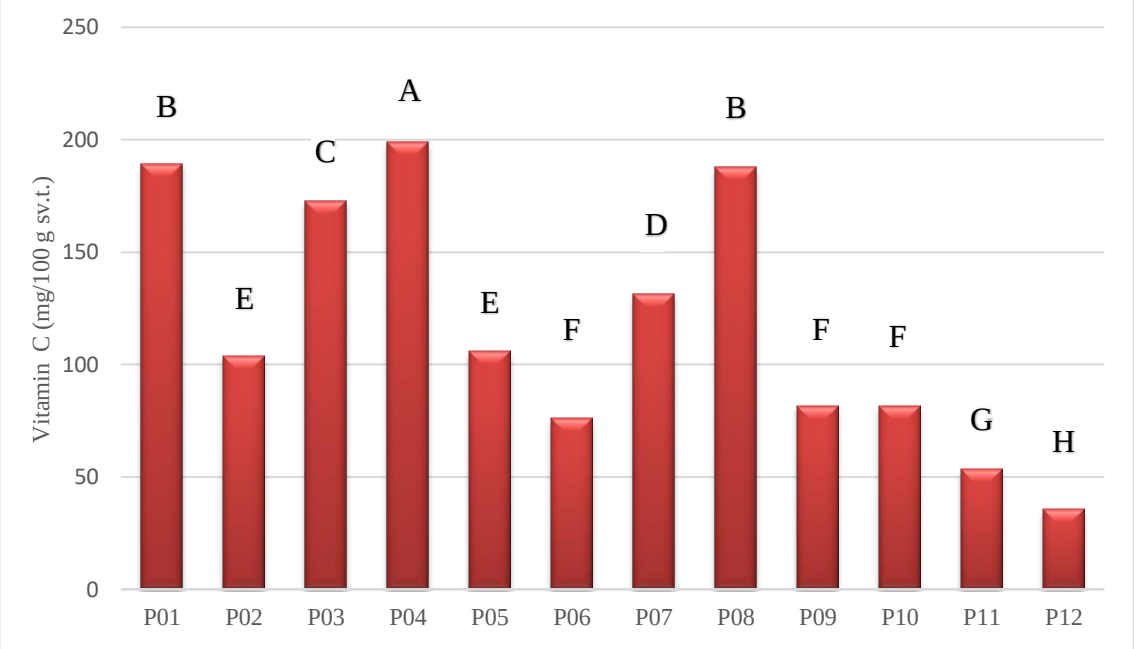
istraživanja. Naime, sadržaj ukupnih kiselina u istraživanim populacijama bio je visoko varijabilan (*CV* = 59,15 %). Na razini svih populacija sadržaj ukupnih kiselina iznosio je 0,99 %. Kod populacije P08 Novaki Petrovinski utvrđen je statistički značajno najviši sadržaj ukupnih kiselina (2,56 %) dok je u populaciji P01 Hodošan utvrđen značajno najniži sadržaj sa srednjom vrijednosti od 0,41 %.

Izmjerene pH vrijednosti kod populacija bile su ujednačene na što upućuje nizak koeficijent varijabilnosti (*CV*) koji je iznosio 4,72 %. pH vrijednost uzoraka kretala se od 3,72 (P07 Izimje) do 4,33 (P01) Hodošan, što upućuje na srednju kiselost uzoraka. Dobivene vrijednosti su u skladu sa rezultatima Günes i sur. (2010) kod kojih je pH vrijednost kretala od 3,0 do 4,6 pH i Kazankaya i sur. (2005), kod kojih je utvrđen pH od 3,2 do 4,4, a niže od rezultata istraživanja Demir i Ozcan (2001) kod kojih se pH vrijednost kretala od 4,34 do 5,12.

Statistički značajno najviši sadržaj topljive suhe tvari utvrđen je kod populacije P08 Novaki Petrovinski, a iznosio je 28,67 %, dok je najniži sadržaj izmjeren kod populacije P03 Varaždin, a iznosio je 10,77 %. Sjeverozapadne populacije, kao i one uzorkovane na području Dalmacije imale su niži sadržaj topljive suhe tvari u odnosu na ostale populacije. U istraživanju Celik i sur. (2009) sadržaj topljive suhe tvari kretao se od 17,73-28,45 %, dok su veće vrijednosti (14,8-36,2 %) utvrđene u istraživanju Kazankaya i sur. (2005).

4.2.2. Sadržaj vitamina C

Sadržaj vitamina C u analiziranim populacijama prikazan je na grafu 4.2.2. Srednja vrijednost sadržaja vitamina C na razini svih analiziranih populacija iznosila je 118,10 mg/100 g svježe tvari, dok se vrijednost između najviše i najniže pojedinačno izmjerene vrijednosti vitamina C kod analiziranih populacija kretala od 33,05 do 200,59 mg/100 g svježe tvari. Koeficijent varijabilnosti za sadržaj vitamina C bio je izrazito visok (*CV*=46.62 %). Najniža srednja vrijednost sadržaja vitamina C utvrđena je kod populacije P12 Kaštel Novi, a iznosila je 35,44 mg/100 g svježe tvari. Značajno najviša srednja vrijednost utvrđena je kod populacije P04 Strošinci (198,66 mg/100 g svježe tvari), dok je visok sadržaj vitamina C također utvrđen kod populacija P01 Hodošan (189,39 mg/100 g svježe tvari) i P08 Novaki Petrovinski (187,50 mg/100 g svježe tvari). Populacije iz sjeverne, središnje i istočne Hrvatske uglavnom su imale viši sadržaj vitamina C u odnosu na populacije iz mediteranskog područja.



*Populacije P01-P12 navedene su u tablici 3.1.

** Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P<0.05$

Graf 4.2.2. Sadržaj vitamina C (mg/100 g svježe tvari) u plodu istraživanih populacija pasje ruže

Velika varijabilnost u sadržaju vitamina C vidljiva je iz mnogih istraživanja. Bozhuyuk i sur. (2021) navode kretanje sadržaja vitamina C u rasponu od 430 do 690 mg/100 g svježe tvari, dok Medveckiene i sur. (2020) navode 385,82 mg vitamina C po 100 g svježe tvari. Raspon od 328-750 mg/100 g svježe tvari vitamina C navodi se u radu Günes i sur. (2010), dok su Uggla i sur. (2003) utvrdili kretanje sadržaja vitamina C u rasponu od 330 do 535 mg/100 g svježe tvari. Kod Soare i sur. (2015) i Roman i sur. (2013) količina vitamina C kretala se od 53-563 mg/100 g odnosno od 112,20 do 360,22 mg/100 g smrznutih uzoraka.

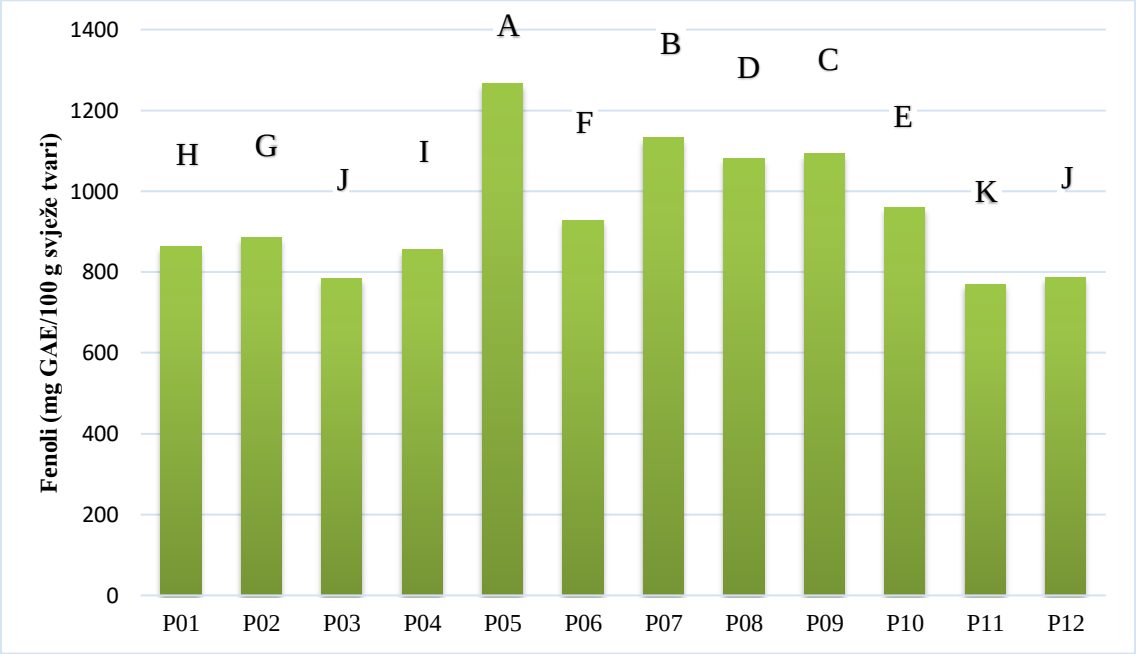
4.2.3. Sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i neflavonoida

Pasja ruža prepoznatljiva je po visokim koncentracijama fenolnih spojeva, koji imaju snažno antioksidacijsko djelovanje, a sintetiziraju se kao odgovor biljke na razne abiotske i biotske stresove (Dai i Mumper 2011).

U analiziranim populacijama sadržaj ukupnih fenola, ukupnih flavonoida te ukupnih neflavonoida, izraženim u mg GAE/100 g svježe tvari. Koeficijent varijabilnost kretao se od 16,25 do 17,96 %.

Količina fenola u svježim plodovima pasje ruže prikazana je na grafu 4.2.3.1., dok su na grafu 4.2.3.2. prikazane vrijednosti sadržaja neflavonoida i flavonoida. Srednja vrijednost sadržaja fenola na razini populacija iznosila je 950,60 mg GAE/100 g svježe tvari. Statistički značajno najviša srednja vrijednost ukupnih fenola (1266,25 mg GAE/100 g) svježe tvari i

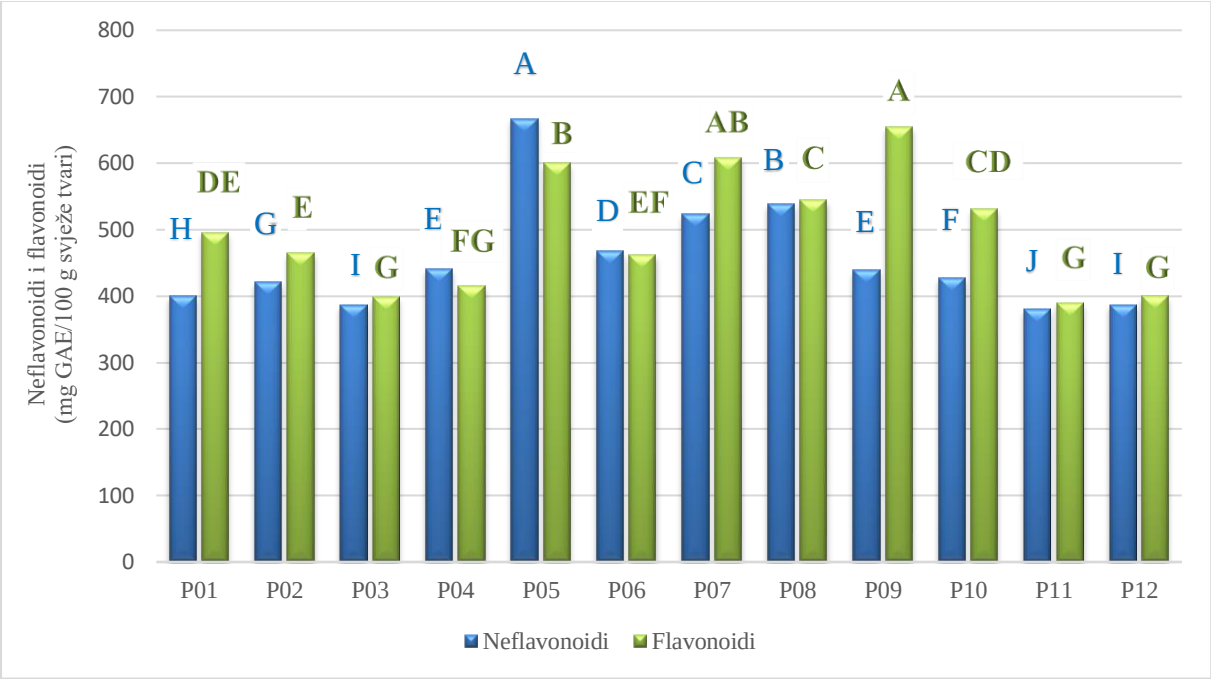
ukupnih neflavonoida (379,67 mg GAE/100 g svježe tvari) zabilježena je u populaciji P05 Zagreb, Dubrava. Nešto niži sadržaj fenola utvrđen je kod populacije P07 Izimje (1131,88 mg GAE/100 g svježe tvari), ali je kod te populacije utvrđena jasna dominacija flavonoida (608,50 mg GAE/100 g) nad neflavonoidima (523,38 mg GAE/100 g). Kod populacije P11 Kaštel Novi, utvrđene su značajno najniže vrijednosti ukupnih fenola, ukupnih neflavonoida te ukupnih flavonoida.



*populacije P01-P12 navedene su u tablici 3.1.

** Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P<0.05$

Graf 4.2.3.1. Sadržaj ukupnih fenola (mg GAE/100 g svježe tvari) u plodu istraživanih populacija pasje ruže



*Populacije P01-P12 navedene su u tablici 3.1.
**Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P<0.05$

Graf 4.2.3.2. Sadržaj ukupnih neflavonoida i flavonoida (mg GAE/100 g svježe tvari) u u plodu istraživanih populacija pasje ruže

Rezultati dostupnih istraživanja sadržaja fenola, flavonoida i neflavonoida pokazuju široku varijabilnost. Roman (2013) u svom je istraživanju na prirodnim populacijama pasje ruže iz Transilvanije utvrdio da se sadržaj fenola kreće od 326 do 575 mg GAE/100 g, a vrlo slične vrijednosti (390-532 mg GAE/100 g) utvrdili su i Bozhuyuk i sur. (2021), dok je u istraživanju Šic Žlabur i sur. iz 2019. godine utvrđen sadržaj fenola od 1109,62 do 1310,79 mg GAE/100 g svježe tvari.

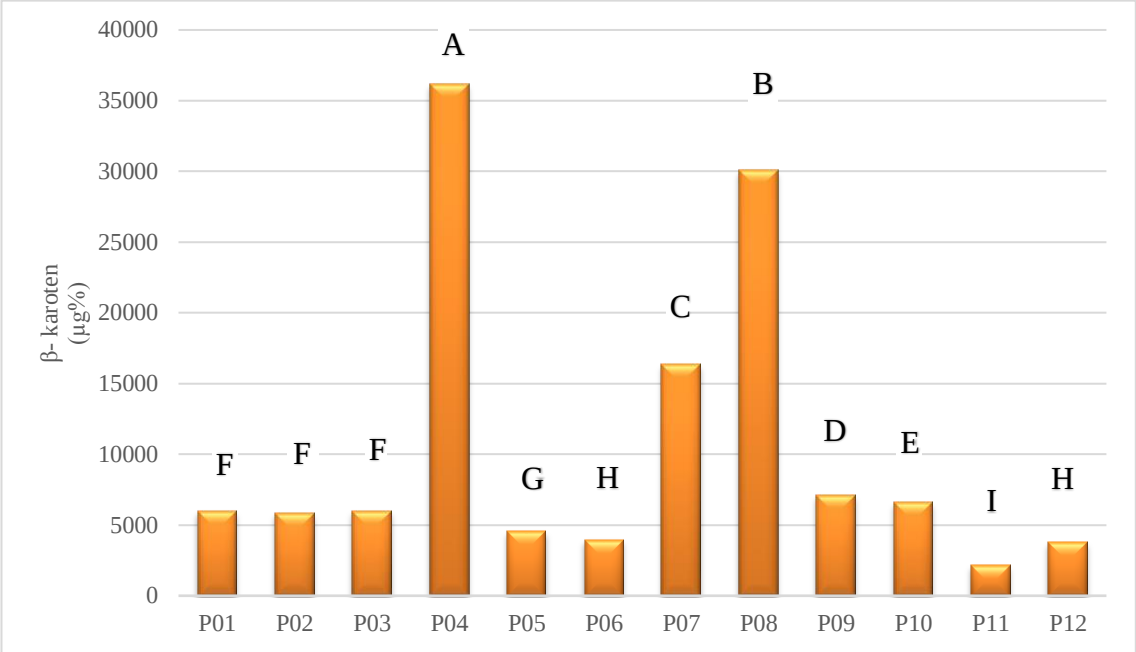
Vrijednosti sadržaja flavonoida i neflavonoida manje su ili skladu sa vrijednostima dobivenim u istraživanju Šic Žlabur i sur. (2019), u kojem je utvrđen sadržaj neflavonoida od 556,54-602,32 mg GAE/100 g te flavonoida od 540,38-708,50 mg GAE/100 g.

4.2.4. Sadržaj β-karotena

Sadržaj β-karotena u plodovima pasje ruže prikazan je na grafu 4.2.4. Srednja vrijednost sadržaja β-karotena na razini svih populacija iznosila je 10719,04 µg/100 g svježe tvari. Srednje vrijednosti sadržaja β-karotena u plodovima pasje ruže u analiziranim populacijama kretale su se od 2160,82 µg % (2,16 mg /100 g) (P11 Kaštel Novi) do 36160,92 µg %, odnosno 36,17 mg/100 g (P04 Strošinci).

U istraživanju Šic Žlabur i sur. (2019) sadržaj β-karotena kretao se od 1,37 do 2,95 mg/g. U istraživanju Stanić (2017) kod plodova samoniklih populacija utvrđeno je 29 500

µg/100 g svježe tvari β-karotena, kod plodova iz ekološke proizvodnje 13 663 µg/100 g, dok je kod plodova iz konvencionalne proizvodnje utvrđeno 14 800 µg/100 g β-karotena.

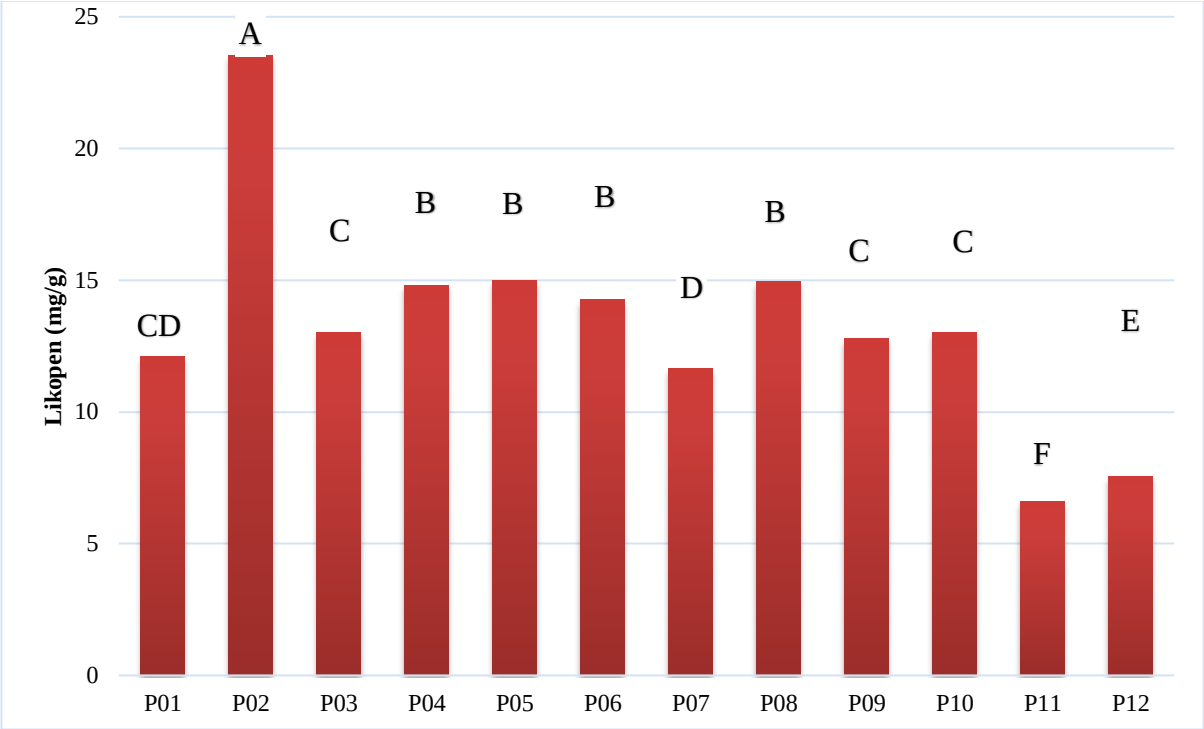


*Populacije P01-P12 navedene su u tablici 3.1.
** Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P<0.05$

Graf 4.2.4. Sadržaj β-karoten (µg%) u plodu istraživanih populacija pasje ruže

4.2.5. Sadržaj likopena

Srednja vrijednost sadržaja likopena na razini populacija iznosila je 13,26 mg/g. Statistički značajno najviši sadržaj likopena utvrđen je kod P02 Varaždin, a iznosio je 23,54 mg/g, dok je kod P11 Kaštel Novi utvrđen statistički značajno najniži sadržaj likopena (graf 4.2.5.). Sadržaj likopena se kod divljih ruža u ekološkom uzgoju na području Litve kretao od 1,18 mg/g do 5,62 mg/g suhe tvari (Medveckiene˙ i sur. 2020), dok Mihaylova i sur. (2015) navode da se u dvije bugarske komercijalne vrste pasje ruže sadržaj likopena kreće od 13,91 do 12,18 µg/g suhe tvari.



*Populacije P01-P12 navedene su u tablici 3.1.

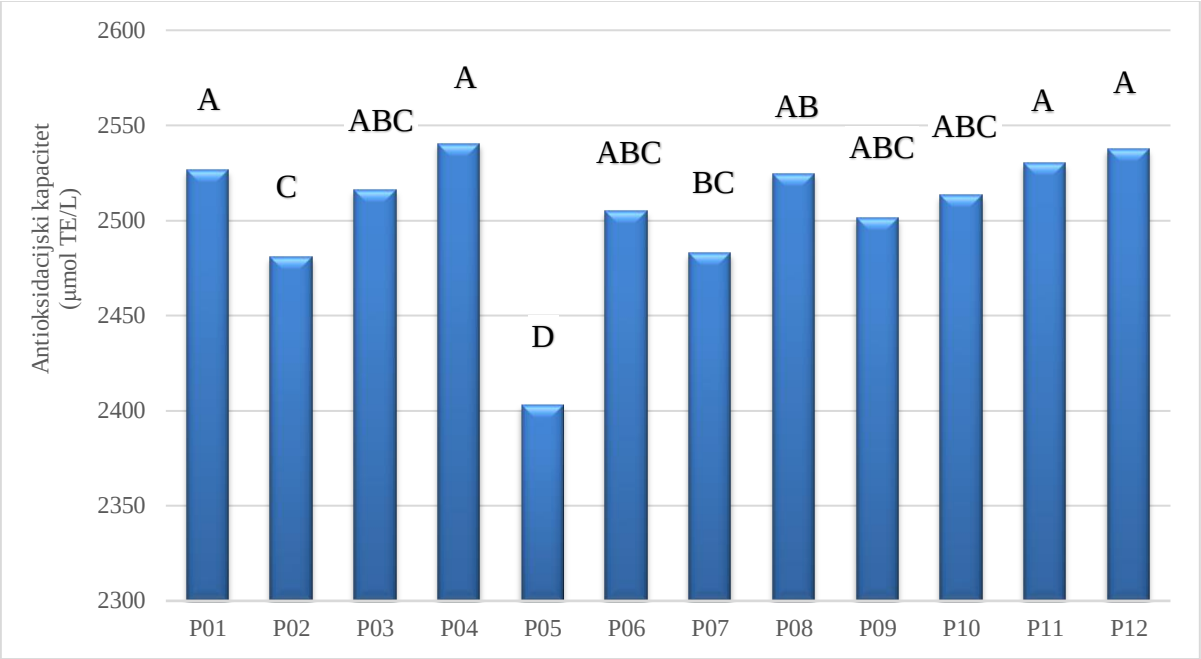
** Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P<0.05$

Graf 4.2.5. Sadržaj likopena (mg/g) u populacijama pasje ruže

4.2.6. Antioksidacijski kapacitet

Antioksidacijski kapacitet povezan je sa sadržajem bioaktivnih tvari, kao što su vitamini, polifenoli, karotenoidi, itd., kojima pasja ruža obiluje (Koczka i sur., 2018). Rezultati analize antioksidacijskog kapaciteta plodova pasje ruže prikazani su na grafu 4.2.6. Varijabilnost antioksidacijskog kapaciteta kod analiziranih populacija bila je niska, što prikazuje koeficijent varijabilnosti od 1,53 %. Najviši antioksidacijski kapacitet utvrđen je kod populacije P04 Strošinci (2540,32 µmol TE/L), što je više od vrijednosti dobivenih u istraživanju Šic Žlabur i sur. (2019). Neznačajno niže vrijednosti utvrđene su kod P01 Hodošan, P08 Novaki Petrovinski, P11 Kaštel Novi i P12 Kaštel Štafilić.

Kod Roman i sur. (2013) i Nađpal (2017) utvrđena je pozitivna korelacija između količine vitamina C i antioksidacijske aktivnosti te količine fenola u odnosu na antioksidacijski kapacitet te negativna korelacija između količine flavonoida i antioksidacijskog kapaciteta.



*Populacije P01-P12 navedene su u tablici 3.1.

**Populacije označene istim slovom ne razlikuju se značajno na razini $P<0.05$

Graf 4.2.6. Antioksidacijski kapacitet (µmol TE/L) u plodu istraživanih populacija pasje ruže

5. Zaključak

Na temelju dobivenih rezultata istraživanja može se zaključiti sljedeće:

1. Postoje značajne razlike u morfološkim i fizikalno-kemijskim svojstvima plodova između samoniklih populacija pasje ruže uzorkovanih na području kontinentalne Hrvatske, Istre i južne Dalmacije.
2. Populacija P07 Izimje imala je najviše prosječne vrijednosti mase ploda (2,55 g), visine ploda (27,72 mm), širine ploda (13,70 mm) i indeksa oblika ploda (2,03).
3. Mediteranske populacije P11 Kaštel Novi i P12 Kaštel Štafilić imale su najviše vrijednosti parametra boje L* i b* što upućuje na činjenicu da su plodovi ovih populacija najsvjetliji te da kod njih dominira žuto narančasta boja. Vrijednost parametra a* bila je najviša kod populacije P02 Varaždin, čiji su uzorci imali najveći intenzitet crvene boje.
4. Najviši prosječni sadržaj suhe tvari utvrđen je kod populacija P09 Lindar (60, 57 %) i P02 Varaždin (60,06 %), dok je kod populacije P08 Novaki Petrovinski utvrđen najviši sadržaj topljive suhe tvari (28,67 %) i sadržaj ukupnih kiselina (2,56 %).
5. Najviši sadržaj vitamina C i β-karotena imala je populacija P04 Strošinci (C vitamin = 198,66 mg/100 g svježe tvari; β-karoten = 36160,92 µg %), a ista populacija imala je i najviši antioksidacijski kapacitet (2540,32 µmol TE/L).
6. U populaciji P05 Zagreb, Dubrava utvrđena je najviša srednja vrijednost ukupnih fenola (1266,25 mg GAE/100 g svježe tvari) i ukupnih neflavonoida (666,95 mg GAE/100 g svježe tvari), dok je najviši sadržaj flavonoida imala populacija P09 Lindar (654,61 mg GAE/100 g svježe tvari).
7. Najviši sadržaj likopena imala je populacija P02 Varaždin (23,54 mg/g).

Dobiveni rezultati ukazuju na široku morfološku i kemijsku varijabilnost populacija pasje ruže. Daljnja istraživanja trebala bi se usredotočiti na analizu većeg broja populacija na širem području Hrvatske kao i na detaljnije kvalitativne i kvantitativne analize bioaktivnih tvari u plodovima pasje ruže.

6. Popis literature

1. AOAC (1995). Official methods of Analysis (16th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
2. AOAC (2002). Official methods of Analysis (17th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
3. Arslan N., Gürbüz B. and Gümüşcü A. (1996). Kusburnunun kültüre alinmasi ve islahinin temel ilkeleri. Kusburnu Sempozyumu, 5-6 Eylül 1996, Gümüşhane, Bildiri Kitabi. str.149-156.
4. Bakker P., MaesB., Maskew R., Stace C. (2019). Dog-roses (*Rosa* sect. *Caninae*): towards a consensus taxonomy, British & Irish Botany, 1(1): 7-19.
5. Bartels W., Kottmann A., Lucke R. (1998). Wildobstbrände als Nischenprodukte (III). Kleinbrennerei 3: 6-10.
6. Beales P., Austin D. (2005). Botanica's roses: the encyclopedia of roses. Könemann
7. Bozhuyuk M. R., Ercisli S., Karatas N., Ekiert H., Elansary H.O., Szopa A. (2021). Morphological and Biochemical Diversity in Fruits of Unsprayed *Rosa canina* and *Rosa dumalis* Ecotypes Found in Different Agroecological Conditions. Sustainability, 13 (14): 8060.
8. Cagle P., Idassi O., Carpenter J., Minor R., Goktepe I., Martin P. (2012). Effect of Rosehip (*Rosa canina*) Extracts on Human Brain Tumor Cell Proliferation and Apoptosis. Journal of Cancer Therapy, 3: 534-545.
9. Celik F., Kazankaya A., Ercisli S. (2009). Fruit characteristics of some selected promising rose hip (*Rosa spp*.) genotypes from Van region of Turkey. African Journal of Agricultural Research, 4(3): 236-240.
10. Cohen M. (2012). Rosehip – an evidence based herbal medicine for inflammation and arthritis. Aust Fam Physician. 41: 495-498.
11. Cvjetković B., Đermić E., Vončina D. (2006). Bolesti ruže. Hrvatsko društvo biljne zaštite: Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 5: 253-263.
12. Dai J., Mumper R. J. (2011). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules 15: 7313-7352.
13. De Cock K., Vander Mijnsbrugge K., Breyne P., Van Bockstaele E., Van Slycken J. (2008). Morphological and AFLP-based differentiation within the taxonomical complex section Caninae (subgenus *Rosa* L.). Annals of Botany 102(5): 685-697
14. Deliorman O. D., Hartevioğlu, A., Küpeli, E., Yesilada, E. (2007). In vivo anti-inflammatory and antinociceptive activity of the crude extract and fractions from *Rosa canina* L. fruits. J Ethnopharmacol. 112: 394-400. Doi: 10.1016/j.jep.2007.03.029
15. Demir F., Ozcan M. (2001). Chemical and technological properties of rose (*Rosa canina* L.) fruits grown wild in Turkey. Journal of Food Engineering, 47: 333-336.
16. Domac R. (2005). Flora Hrvatske. Školska knjiga, Zagreb

17. Egea I., Sánchez-Bel P., Romojaro F., Pretel M. T. (2010). Six edible wild fruits as potential antioxidant additives or nutritional supplements. Plant Foods Hum Nutr, 65: 121-129.
18. Ercişli S. (2007). Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa spp*.) species. Food Chemistry, 104: 1379-1384.
19. Erentürk S., Gulaboglu M. S., Gultekin S. (2005). The effect of cutting and drying medium on the vitamin C content during drying. J. Food Engin. 68:513-518.
20. Erkin Ö. (2017). Herbal Medicine in Stamps: History of *Rosa Canina* through Philately. Galore International Journal of Health Sciences and Research, 2 (4): 1-7.
21. Fan C., Pacier C., Martirosyan M. D. (2014). Rose hip (*Rosa canina L*.): A functional food perspective. Functional Foods in Health and Disease, 4(11): 493-509.
22. Fish W. W., Perkins-Veazie P., Collins J. K. (2002). A Quantitative Assay for Lycopene That Utilizes Reduced Volumes of Organic Solvents. Journal of Food Composition and Analysis 15: 309-317
23. Forenbacher S. (1990).Velebit i njegov biljni svijet. Školska knjiga, Zagreb
24. Fougère-Danezan, M., Joly, S., Bruneau, A., Gao, X-F., Zhang, L-B. (2015). Phylogeny and biogeography of wild roses with specific attention to polyploids. Annals of Botany 115: 275-291.
25. Gao X, Bjork L., Trajkovski, V., et al. (2000). Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems. J Sci Food Agric. 80: 2021-2027. doi: 10.1002/1097-0010(200011)80:14<2021::AID-JSFA745>3.0.CO;2-2
26. Georgieva S., Angelov G., Boyadzhieva S. (2014). Concentration of Vitamin C and Antioxidant activity of Rosehip Extracts. Journal of Chemical Technology and Metallurgy, 49(5): 451-454.
27. Ghiorghiţă G., Antohe N., Raţi I. V., Maftei D. E. (2012). The study of some parameters of *Rosa canina* L. genotypes from different native populations and from the same population. Analele Ştiinţifice ale Universităţii „Al. I. Cuza" Iaşi s. II a. Biologie vegetală, 58(1): 19-27.
28. Grlić Lj. (2005). Encikopedija samoniklog jestivog bilja. Ex libris, Rijeka
29. Gruenwald J., Uebelhack R., Moré M.I. (2019). *Rosa canina* - Rose hip pharmacological ingredients and molecular mechanics counteracting osteoarthritis - A systematic review. Phytomedicine. 60,152958. doi: 10.1016/j.phymed.2019.152958
30. Güneş M. (2010). Pomological and phenological characteristics of promising rose hip (*Rosa*) genotypes, African Journal of Biotechnology, 9(38): 6301-6306.
31. Güneş M., Dölek Ü., Elmastaş M. (2016). Pomological changes in some rosehip species during ripening. Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpasa University, 33(3): 214-222.
32. Jiménez S., Gascón S., Luquin A., Laguna M. , Ancin-Azpilicueta C., Rodríguez-Yoldi M. J. (2016). *Rosa canina* Extracts Have Antiproliferative and Antioxidant Effects on Caco-2 Human Colon Cancer PLOS ONE: 1-14 doi:10.1371/journal.pone.0159136

33. Joublan J.P., Rios D. (2005). Rose culture and industry in Chile. Acta Hortic. 690: 65-70.
34. Karhan M., Aksu M., Tetik N., Turhan I. (2004). Kinetic modelling of an anaerobic thermal degradation of ascorbic acid in (*Rosa canina* L) pulp. J. Food Quality 27: 311-319.
35. Kazankaya A., Turkoglu N., Yilmaz M., Balta M. F. (2005). Pomological Description of *Rosa canina* Selections from Eastern Anatolia, Turkey. International Journal of Botany, 1: 100-102.
36. Kazaz S., Baydar H., Sabri Erbas S. (2009). Variations in Chemical Compositions of *Rosa damascena* Mill. and *Rosa canina* L. Fruits, Czech J. Food Sci. 27 (3): 178-184.
37. Koczka N., Stefanovits-Bányai É. Ombódi A. (2018). Total polyphenol content and antioxidant capacity of rosehips of some *Rosa* species. Medicines 5 (3): 84.
38. Lodeta V. (2006). Kakvoća šipka i podizanje nasada ruža za uzgoj ploda. Pomologia Croatica 3: 233-239.
39. Matleković V. (2016). Tehnologija uzgoja divlje ruže (*Rosa canina* L.) i mogućnost prerade plodova. Završni rad. Sveučilište u Zagrebu. Agronomski fakultet.
40. Mažur M. (2015). Mineralni sastav presadnica divlje ruže uzgojene *in vitro*. Diplomski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek.
41. Medveckiene B., Kulaitiene J., Jariene E., Vaitkeviciene˙N., Hallman E. (2020). Carotenoids, Polyphenols, and Ascorbic Acid in Organic Rosehips (*Rosa spp*.) Cultivated in Lithuania. Applied Sciences, 10, 5337.
42. Mihaylova D., Georgieva L, Pavlov A. (2015). Antioxidant activity and bioactive compounds of *Rosa canina* L. Herbal preparations. Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies, XIX: 160-165.
43. Miller N.J., Diplock A.T., Rice-Evans C., Davies M.J., Gopinathan V., Milner A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clinical Science, 84(4): 407-412.
44. Nađpal J. (2017). Fitohemijski skrining i biološka aktivnost ekstrakata i tradicionalnih proizvoda od plodova divljih ruža (*Rosa* L.; *Rosaceae*). Doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu Prirodno-matematički Fakultet, Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Novi Sad
45. Nagatomo A., Nishida N., Fukuhara I., Noro A, Kozai Y., Sato H., Matsuura Y. (2014). Daily intake of rosehip extract decreases abdominal visceral fat in preobese subjects: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. Dovepress. 8: 147-156. doi: 10.2147/DMSO.S78623
46. Nybom H., Werlemark G. (2015). Beauty is as beauty does - culinary and medicinal use of rosehips. Acta Horticulturae, 1064: 137-150.

47. Orhan N., Aslan M., Hosbas S., Deliorman O.D. (2009). Antidiabetic effect and antioxidant potential of *Rosa canina* fruits. Pharmacogn. Mag. 5: 309-315. Doi:10.4103/0973-1296.58151
48. Öszan M. (2002). Nutrient composition of *Rosa canina* L. Seed and oils. J Med Food. 5(3): 137-140.
49. Ough C.S., Amerine M.A. (1998). Methods for Analysis of Musts and Wines. Wiley & Sons. Washington, SAD.
50. Phetcharat L., K Wongsuphasawat K., Winther K: (2015). The effectiveness of a standardized rose hip powder, containing seeds and shells of *Rosa canina*, on cell longevity, skin wrinkles, moisture, and elasticity. 10: 1849-1856.
51. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.A. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology & Medicine, 26 (9-10): 1231-1237.
52. Ritz C. M., Schmuths H., Wissemann V. (2005). Evolution by Reticulation: European Dogroses Originated by Multiple Hybridization Across the Genus *Rosa*. Journal of Heredity, 96(1): 4-14.
53. Roman J., Stănilă A., Stănilă S. (2013). Bioactive compounds and antioxidant activity of *Rosa canina* L. biotypes from spontaneous flora of Transylvania. Chemistry Central Journal, 7:73: 1-10 .
54. Ropciuc S., Crețescu I., Leahu A., Velicevici G. (2013). Biometric and chemical characteristics of the species *Rosa canina* L. used as a natural and functional food. 48th Croatian & 8th International Symposium on Agriculture | Dubrovnik | Croatia, Povrćarstvo, ukrasno, aromatično i ljekovito bilje, str. 425-429
55. SAS Institute Inc. Base SAS® 9.3 procedures guide: statistical procedures; SAS Institute Inc.: North Carolina, USA, 2011.
56. Scheerer O. (1971). Ruže u našem vrtu. Mladost, Zagreb
57. Schubert M. (1979). Sve o vrtu. Mladost, Zagreb
58. Seifi M., Abbasalizadeh S., Mohammad-Alizadeh Charandabi S., Khodaie L., Mirghafourvand M. (2018). The effect of Rosa (L. *Rosa canina*) on the incidence of urinary tract infection in the puerperium: A randomized placebo-controlled trial. Phytother Res. 32: 76-83. doi: 10.1002/ptr.5950
59. Selahvarzian A., Alizadeh A, Baharvand P. A. , Eldahshan O. A., Rasoulian B. (2018) Medicinal Properties of *Rosa canina* L., Herbal Medicines Journal; 3 (2): 77-84 .
60. Sen S.M., Gunes M. (1996). Some chemical and physical properties of roses are grown in Tokat provinces. Rose hip Symposium, Gümüşhane, 231-239.
61. Skendrović Babojelić M., Fruk G. (2016). Priručnik iz voćarstva; Građa, svojstva i analize voćnih plodova. Hrvatska sveučilišna naklada, Zagreb
62. Soare R., Bonea D., Iancu P., Niculescu M. (2015). Biochemical and Technological Properties of Rosa Canina L. Fruits from Spontaneous Flora of Oltenia, Romania. BulletinUASVM Horticulture 72(1): 182-186.

63. Stanić L. (2017). Bioaktivne komponente ploda pasje ruže (*Rosa canina* L.) Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu. Agronomski fakultet
64. Šebek G., Pavlova V. (2019). Biohemijska i tehnološka svojstva ploda odabranih genotipova šipurka sa područja Bijelog polja. XXIV savetovanje o biotehnologiji", Univerzitet u Kragujevcu. Agronomski fakultet u Čačku. Zbornik radova 2: 505-510.
65. Šic Žlabur J., Voća S., Dobričević N., Pliestić S., Galić A., Stanić L., Skendrović Babojelić M. (2019). Specijalizirani metaboliti plodova pasje ruže (*Rosa canina* L.). Zbornik radova 54th Croatian & 14th International Symposium on Agriculture, str. 558-561.
66. Šindrak Z., Jemrić T., Baričević L., Han Dovedan I., Fruk G. (2012). Kakvoća plodova sjemenjaka pasje ruže (*Rosa canina* L). Journal of Central European Agriculture, 13(2): 321-330.
67. Šindrak Z., Jemrić T., Grđan K., Baićević L. (2013). Divlje ruže Važnost, uporaba i uzgoj. Hrvatska sveučilišna naklada, Zagreb.
68. Tomljenović N. (2019). Morfološka, pomološka i genetska varijabilnost genotipova divlje ruže (*Rosa canina* L.). Doktorski rad, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zagreb
69. Tomljenović N., Jemrić T., Šimon S., Žulj Mihaljević M., Gaši F., Pejić I. (2019) Genetska varijabilnost unutar i između generativnih potomstava divlje ruže (*Rosa spp.*) Journal of Central European Agriculture, 20 (2): 609-625.
70. Tomljenović N., Jemrić T., Vuković M. (2021) Variability in pomological traits of dog rose (*Rosa canina* L.) under the ecological conditions of the Republic of Croatia. Acta Agriculturae Serbica, 26 (51): 41-47.
71. Tomljenović N., Pejić I.(2018). Taxonomic Review of the Genus *Rosa*. Agriculturae Conspectus Scientificus, 83(2): 139-147.
72. Tomljenović N., Ševar M., Jemrić T., Pejić I. (2016). Perspektive uzgoja divlje ruže (*Rosa canina* L.) u Hrvatskoj. Oplemenjivanje bilja, sjemenarstvo i rasadničarstvo, Zbornik sažetaka / Zdravko Matotan (ur.) - Jakovlje: Hrvatsko agronomsko društvo, str. 123-123
73. Uggla M. (2004). Domestication of wild roses for fruit production. PhD Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, Švedska
74. Uggla M., Gao X., Werlemark G. (2003). Variation Among and Within Dogrose Taxa (*Rosa* sect. *caninae*) in Fruit Weight, Percentages of Fruit Flesh and Dry Matter, and Vitamin C Content, Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Plant Soil Science, 53:3.
75. Uggla M., Martinsson M. (2005). Cultivate the wild roses—experiences from production in Sweden. Acta Hort. 690: 83-89.
76. Vermeulen N. (2003). Ruže: encikopedija. Veble commerce, Zagreb.
77. Werlemark G. (2009). Dogrose: Wild Plant, Bright Future. Chronica Horticulturae, Volume 49, Number 2: 8-13.

78. Werlemark G., Nybom H. (2010). Dogroses: Botany, Horticulture, Genetics and Breeding. Ed. Janick, J., Horticultural Reviews, 36: 199-255.
79. Winther K., Vinther Hansen A. S., Campbell-Tofte J. (2016). Bioactive ingredients of rose hips (*Rosa canina* L) with special reference to antioxidative and anti-inflammatory properties: in vitro studies. Botanics: Targets and Therapy, 6: 11-23.

Izvori s web stranica:

1. Euro+Med PlantBase, (2021). Dostupno na: http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/query.asp. Pristupljeno: 28. 06. 2022.

2. Nikolić T. Ur. (2022). Flora Croatica baza podataka (http://hirc.botanic.hr/fcd). Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu. Dostupno na: https://hirc.botanic.hr/fcd/ Pristupljeno: 22. 06. 2022.

Izvori slika:

Slika 2.5. Održavanje nasada pasje ruže; Izvor: https://www.agroklub.com/eko-proizvodnja/mladi-supruznici-primorac-svoju-pricu-grade-kroz-eko-sipak-a-za-sve-je-kriv-punac/62817/ Pristupljeno: 10.08.2022.

Slika 2.6. Nasad pasje ruže Izvor: https://www.agroklub.com/eko-proizvodnja/mladi-supruznici-primorac-svoju-pricu-grade-kroz-eko-sipak-a-za-sve-je-kriv-punac/62817/ Pristupljeno: 10.08.2022.

Slika 2.7. Ručno branje pasje ruže Izvor: https://gospodarski.hr/rubrike/vocarstvo-rubrike/uzgoj-sipka-u-slavoniji-opg-cutuk/ Pristupljeno: 10.08.2022.

Slika 2.8. Strojno branje pasje ruže Izvor: https://pozega.eu/berba-sipka-kod-obiteljskog-poljoprivrednog-gospodarstva-antonije-zelenika-u-velikoj-slijedi-spravljanje-poznatih-pekmeza-i-caja-foto/#gsc.tab=0 Pristupljeno: 10.08.2022.

Životopis

Patricija Bosilj (rođena Marenčić) rođena je u Varaždinu 22.11.1994. godine. Pohađala je VI. osnovnu školu Varaždin gdje je 2009. godine završila osnovnoškolsko obrazovanje, a nakon čega je upisala sportski razred za zanimanje "ekonomist" na srednjoj Gospodarskoj školi Varaždin koju završava 2013. godine. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, preddiplomski studij Ekološka poljoprivreda, upisala je 2015. godine, a završila 2018. godine. Diplomski studij Ekološka poljoprivreda i agroturizam upisala je 2018. godine, ali je zbog rođenja djeteta (2018. i 2020.) dva puta po godinu dana upisala mirovanje fakultetskih obaveza te ponovno nastavila školovanje u 2019. odnosno 2021. godini.

Aktivno se koristi engleskim jezikom u govoru i pismu. Aktivno poznavanje rada na računalu (Ms Office).